

[Detailed Description of the Invention]

Field this invention of background invention of peptide drug agent invention for taking orally relates to the peptide drug agent for taking orally to which an active compound contains two or more amino acid and at least one peptide bond in the molecular structure, and the method of raising the bioavailability of this peptide activity compound, when administered orally.

The Homo sapiens hormone of a majority of explanation pertinent arts, neurotransmitter, and other important biological compounds have peptide as a substantive part of the molecular structure. Many diseases answer positively making the level of these peptide compounds in a patient go up. A patient may be medicated with an effective quantity by various methods therapeutically [this biological related peptide]. However, internal use desirable about this kind of active compound is dramatically difficult so that it may discuss below further.

For example, calcitonin salmon is peptide hormone to which the calcium consumption from a bone is made to fall. When used for bone associated diseases and calcium injury (osteoporosis, Paget's disease, malignant hypercalcemia, etc.), this calcitonin has the effect of helping to hold bone density. Many kinds of calcitonins isolate (human calcitonin, calcitonin salmon, eel calcitonin, elcatonin, swine calcitonin, and fowl calcitonin). Structural homology is not remarkable among various calcitonins. For example, only 50% is the same from the amino acid which builds the calcitonin of Homo sapiens -, and the amino acid which builds calcitonin salmon. However, in spite of the difference in molecular structure, as calcitonin salmon described above, it can be used for the treatment of a human calcitonin response disease.

The peptide medicine used with the advanced technology is often prescribed for the patient by injection or pernasality. An insulin is one example of peptide medicine frequently prescribed for the patient by injection. Although internal use is more preferred, since a peptide activity compound is very apt to receive denaturation in the stomach and intestines, it becomes a problem and is a victory. Attaining the level in blood which can remanufacture calcitonin salmon seems for example, not to report it with the advanced technology, when administered orally. Calcitonin salmon lacks sufficient stability in an alimentary canal, and according to seldom being transported into blood through an intestinal wall, this is considered. However, as compared with taking orally, injection and nasal administration are clearly inconvenient, and give a patient displeasure. It breaks out that a patient does not often take substantially in a treatment therapy for this inconvenience or displeasure. Thus, there is technical necessity about the internal use of peptide medicines, such as other substances minutely described on an insulin, calcitonin salmon, and these Descriptions, which can be remanufactured [more effective and].

The protein breakdown nature enzyme of both the stomach and intestines denaturalizes and inactivates it, before peptide is absorbed by the blood flow. All the peptide which escaped the protein breakdown nature denaturation by stomach protease (it has acid pH optimum typically) faces the enzyme (it has basic pH optimum from neutrality typically) secreted by protease and the pancreas of a small intestine. The special difficulty of occurring from internal use of peptide, such as calcitonin salmon, has comparatively large molecular size and its electric charge distribution which it has. This makes it still more difficult for calcitonin salmon to permeate the membrane which met the intestinal wall, or to enter into blood through intestinal brush border membrane. These additional problems restrict a bioavailability

further.

The purpose of outline this invention of invention is to provide an effective oral medicinal composition therapeutically for transporting certainly for example, physiological biologically-active-peptide agents, such as other substances described on medicine peptide, for example, an insulin, calcitonin salmon, vasopressin, and these Descriptions.

The further purpose of this invention is to provide the cure for raising the bioavailability of this peptide.

The further purpose of this invention provides the method of dealing with bone associated diseases and calcium injury, by administering calcitonin salmon orally.

In one mode, it is this invention, (A) This biologically-active-peptide agent of a remedially effective quantity;

(B) At least one sort of pH decrease agents permitted pharmacologically;

(C) At least one sort of absorption improvers effective for promoting the bioavailability of this active agent;

(D) Acid resistance protection conveyance agent effective for transporting this medicinal composition through a patient's stomach while preventing contact with this biologically active peptide and stomach protease;

(Among them, when this constituent is added to 10 ml of 0.1M sodium bicarbonate solution, a pH decrease agent is the quantity which becomes enough to make the pH of this solution or less into 5.5, and exists in this medicinal composition)

The medicinal composition for taking orally of the physiological biologically-active-peptide agent containing things is provided.

Although a desirable peptide activity agent does not limit, it contains an insulin, vasopressin, calcitonin salmon, and other substances that carry out the following, and contains especially calcitonin salmon.

In other embodiments, provide this invention and the method for raising the bioavailability of the therapeutic peptide activity drugs prescribed for the patient in taking orally the method, These peptide activity drugs with at least one sort of pH decrease agents, and at least one sort of absorption improvers. It includes that this peptide drug agent, a pH decrease agent, and an absorption improver are emitted subsequently to the inside of an intestinal tract through this patient's mouth and the stomach under protection of the acid resistance protection conveyance agent which prevents substantially contact with stomach protease and this peptide agent.

If this pH decrease agent and the substance both emitted are added to 10 ml of 0.1M sodium bicarbonate solution, it will be sufficient quantity to make the pH of this solution or less into 5.5, and will be emitted in intestines.

In other embodiments, provide this invention and the method for raising the bioavailability of the calcitonin salmon given in taking orally the method, This calcitonin with at least one sort of pH decrease agents, and at least one sort of absorption improvers. It includes that this calcitonin salmon, a pH decrease agent, and an absorption improver are emitted subsequently to the inside of an intestinal tract through this patient's mouth and the stomach under protection of the enteric coating which prevents contact with stomach protease and this calcitonin substantially.

If it is added to the quantity of 10 ml of 0.1M sodium bicarbonate solution by this conveyance agent in this intestinal tract, this pH decrease agent will be sufficient quantity to make the pH of this solution or less into 5.5, and will be emitted.

This invention, (1) A possibility that the protein breakdown nature denaturation of a peptide activity compound will occur by protecting peptide from the protein breakdown by stomach protease (it is activity most at acid pH typically), (2)

intestines, and pancreas protease (it is activity most at pH of neutrality [basicity] typically) simultaneously. It will think, if it decreases.

By this invention promoting a process, the peptide protection from protein breakdown nature denaturation is continued, and peptide is considered to enter into blood through intestines brush border membrane.

An acid resistance protection conveyance agent protects a peptide activity agent from acid stomach operation protease. A significant quantity of acid (the peptide activity agent is mixed with this) decreases in number the activity of basic operation protease (for example, luminal or slaking property protease of brush border membrane) from the neutrality in intestines by lowering pH to below the optimal active zone of protease in intestines. The absorption improver of this invention is used for raising that a peptide agent is carried into blood through an intestinal-mucosa layer and brush border membrane.

The concurrent use of the absorption improver by this invention and a pH decrease agent brings a surprising synergistic effect to a bioavailability as compared with an absorption improver independent or a pH decrease agent independent. The formula I of Table 4 (calcitonin salmon independent) which carries out a postscript, and the formula I of Table 3 (calcitonin salmon and pH decrease agent) and the formula II (calcitonin salmon and absorption improver) of Table 4 are compared with the formula III (calcitonin salmon, a pH decrease agent, and an absorption improver) of Table 4.

Other features and advantages of this invention will become clear from the following detailed description of the invention.

The patient who requires the treatment in a peptide activity ingredient is provided with the oral medicinal composition by a suitable dosage by detailed opinion Akemoto invention of invention. Although usual tablet or capsule of a constituent of a size in medicine manufacture is preferred, it is not necessarily limited to it. The postscript of the dosage and the number of times of the administration is carried out in detail. Effective patients are those who have an obstacle which answers preferably that the level of a peptide content compound goes up. For example, calcitonin salmon of taking orally by this invention is used for dealing with the patient of calcium injury or a bone disease. In osteoporosis, Paget's disease, *****, etc., this invention is used, for example, although a measure is preferably taken by calcitonin salmon, the calcitonin of taking orally, and.

Calcitonin salmon is an active ingredient desirable to the use in this invention from many Reasons. For example, even if used for a human patient, it has an advantage which exceeds human calcitonin. Effect is large, and the advantage acquired by the treatment of the Homo sapiens osteoporosis instead of human calcitonin using calcitonin salmon is analgesia nature, and is with long half-lives. Calcitonin salmon is more effective in a quantity lower than the quantity which natural human calcitonin takes in treatment. There are not a salmon and homology substantial to human calcitonin, and, as for the amino acid sequence of both calcitonins, only 50% is the same.

When administered orally by this invention, this invention person found out having a far high bioavailability rather than calcitonin salmon was predicted from the molecular weight. this invention person discovered exceeding intentionally it (as for amino acid, in the former (sCT), the latter (PTH) is 34 to 32) of parathyroid hormone which has the amount of peptide molecules with a similar bioavailability of calcitonin salmon in the oral formula of this invention by the internal comparative study.

Although it is not the intention connected to theory, it is thought that the medicinal

composition of this invention conquers separate and a series of unrelated natural barriers to a bioavailability. Various ingredients of a medicinal composition conquer a separate obstacle as it is also at the suitable mechanism for each, and they bring synergy to the bioavailability of a peptide activity ingredient. Although [which is chemical and strengthens the bioavailability by a physical property] it is peculiar to calcitonin salmon and other peptide, a specific absorption improver becomes effective so that the following may be carried out.

A peptide activity compound may be administered orally. By this invention, the protein breakdown nature denaturation of peptide by protease (the most is activity in the field of basicity [neutrality / pH]) of stomach protease (the most is activity in pH acidic regions) and intestines, or the pancreas decreases. A soluble improver promotes that a peptide activity agent passes an intestinal-epithelium barrier.

Although it is not the intention connected to theory, in order to prevent substantially contact with calcitonin salmon or other biologically active peptide, and a certain stomach protease that can denaturalize it by this invention, peptide is transported under a suitable acid resistance protection conveyance agent. If the medicinal composition of this invention goes into the intestines which are neutral pH from basicity through the stomach, protease has neutrality from optimum-pH basicity there, but enteric coating or other conveyance agents emit peptide and acid (touching mutually).

It is thought that this acid lowers pH in local intestines (place where an activator agent is emitted) to a level lower than the optimum region for much protease in intestines. This pH decrease makes the protein breakdown ability of protease in intestines decrease, and protects peptide from the denaturation which may take place. The activity of these protease decreases according to temporary acidic environment provided by this invention. It is desirable to provide sufficient acid so that pH in local intestines may fall in 3.5 or less still more preferably or less by 4.7 preferably by 5.5 or less temporarily.

It is an index of the quantity of the acid which the sodium bicarbonate examination ("pH decrease agent" chapter of a title) which carries out the following needs. As for the deteriorating state of pH in intestines, continuing is [sufficient time to protect peptide from protein breakdown nature denaturation] preferred until the quantity which has peptide at least obtains an opportunity to go into a blood flow from an intestinal wall. According to the experiment by calcitonin salmon, when an active ingredient is directly injected into the duodenum, an ileum, or a large intestine, as for the blood drug concentration of calcitonin salmon, T_{max} for 5 to 15 minutes is shown. In the state where protein breakdown activity decreased, the absorption improver of this invention promotes the peptide absorption to the inside of blood synergistically. The mechanism considered that a bioavailability increases by this invention has an active ingredient of a medicinal composition in being emitted as simultaneous as possible. It is desirable to keep the quantity of enteric coating as low as possible preferably to compensate for offer of the protection to stomach protease for this purpose. Thus, the influence of enteric coating becomes small to discharge of other ingredients in the time close to discharge or it of peptide. Enteric coating should usually be added of 30 or less weight % of the remaining ingredients (namely, other ingredients of the constituent from which enteric coating was excepted) of the medicinal composition. Enteric coating is preferably made at 10-20% still more preferably 20% to the weight of an uncoated ingredient.

The absorption improver (the following is carried out for details) which are a soluble improver and/or a transfer improver and is obtained advances a process so that a

transfer may occur as much as possible in the time zone when helps the transfer of the peptide agent from an intestinal tract to the inside of blood, pH in intestines falls at, and the protein breakdown ability in intestines is falling. Many surface-active agents can act as both a soluble improver and a transfer (incorporation) improver. Although it is not the intention connected to theory, it is thought that a soluble improver provides the better solubility [in / the stratum mucosum which met the simultaneous possible discharge of this invention active ingredient to the aquosity portion in (1) intestines and (2) intestinal walls] of the peptide which leads the time of a transfer. If a peptide activity ingredient reaches an intestinal wall, an incorporation improver provides good shift into blood through intestines brush border membrane through either transformer cellularity or the Para cellularity shift. Many desirable compounds provide both functions so that the following of the details may be carried out. In that case, the desirable embodiment using both functions only adds one additional compound to a medicinal composition, and can attain the purpose. In other embodiments, a different absorption improver provides two functions separately. Each of the desirable ingredient of the medicinal composition of this invention will be described later, respectively.

It can use like a pH decrease agent also with an independent combination of two or more pH decrease agents or two or more improvers, and/or an independent improver. A postscript is carried out also about some desirable combination.

All the remedy agents which have two or more amino acid and at least one peptide bond in the molecular structure in activity physiologically are contained in the peptide activity ingredient which has an advantage by internal use by peptide activity ingredient this invention. According to some mechanisms, this invention controls the denaturation of the active ingredient by the protease which will cleave one or more peptide bonds of an active ingredient. The substitution and a modification of further others may be made by molecular structure. For example, calcitonin salmon which is a desirable peptide activity agent is formed into a friend date in the end of the C. Peptide of both artificiality and nature can administer orally according to this invention.

Although it does not limit, there are an insulin, vasopressin, and calcitonin (not only desirable calcitonin salmon but other calcitonins are included) in the peptide activity compound of this invention. As other examples, there are calcitonin gene related peptide, parathyroid hormone, a luteinizing hormone stripping factor, erythropoietin, an organization plasminogen activator, a human growth hormone, adrenocorticotrophin, various interleukin, enkephalin, etc. Many other things are known.

The profits from internal use also according [what kind of Pharmaceutical Compounds Sub-Division which has a peptide bond which can be the target of cleavage in an alimentary canal] to this invention will be obtained. It is because it is thought that such cleavage decreases by this invention.

0.02-0.2 % When using calcitonin salmon, it is preferably contained to the full weight of the whole (except for enteric coating) medicinal composition. Calcitonin salmon is marketed (for example, BACHEM, Torrance, California). It is compoundable with known technology. The postscript of the some is carried out simply. Other peptide activity agents should exist by high or low concentration according to desired target blood drug concentration about the active compound in the oral transportation system of this invention, and its bioavailability (some are shown in Table 8).

The existing technology of a calcitonin salmon precursor is chemical, or it is built by a recombination synthetic method. The precursor of other amidation peptide activity

agents is built similarly. It seems that recombination production has dramatically good cost-performance. A precursor is converted into activity calcitonin salmon by the known amidation reaction. For example, the enzymatic amidating methods are U.S. Pat. No. 4,708,934 and the European Patent public presentation 0. 308 067 and 0 382 It is indicated to 403. both enzymes in which recombination production carries out the catalyst of the conversion to a precursor and calcitonin salmon of that -- an intermediary -- it is desirable. Such recombination production was indicated without Biotechnology and Vol.11(1993)pp.64-70, and has also described conversion on the amidation object of a precursor further. The recombination product reported here is the same as the calcitonin salmon manufactured using natural calcitonin salmon or solution, and solid phase chemical peptide synthesis.

Production of desirable recombination calcitonin salmon (rsCT) advances by building a glycine extension calcitonin salmon precursor with a glutathione S-transferase as soluble fused protein, for example. A glycine extension precursor has the same molecular structure as activity calcitonin salmon, if a C terminal is removed. (-pro-NH₂ finishes calcitonin salmon and a precursor finishes it as -pro-gly.) alpha-amidation enzyme indicated in above-mentioned document carries out the catalyst of the conversion to calcitonin salmon of a precursor. For example, in a Chinese hamster ovary cell (CHO) cell, this enzyme is preferably built by Biotechnology of the above-mentioned citation like a description in recombination. Other precursors to other amidation peptide are built in a similar way. The peptide which does not need amidation or other additional organic-functions-ization is also built in a similar way. Other peptide activity agents are marketed or are built with the existing technology. When emitted in intestines, there should be the whole quantity of the pH decrease agent which should be prescribed for the patient with each administration of pH decrease agent calcitonin salmon preferably in sufficient quantity for that of pH ***** in partial intestines so that it may be substantially less than the protease optimum pH of a there. The quantity to need changes inevitably by some factors, such as the proton equivalent given by the kind (the following is carried out) of used pH decrease agent, and the pH decrease agent. The quantity taken to acquire the outstanding bioavailability as a practical question is a quantity which lowers the pH of this solution to 3.5 or less still more preferably 4.7 or less preferably 5.5 or less, when 10 ml of 0.1M sodium bicarbonate solution is added. Acid sufficient in the above-mentioned examination to lower [about 2.8] pH is used in some the embodiments. in the medicinal composition of this invention -- desirable -- at least -- -- 300 mg -- further -- desirable -- at least -- -- a 400-mg pH decrease agent is used. This is applied to the full weight which doubled them, when two or more pH decrease agents are used together. The oral pharmaceutical preparation should not contain any bases which bar that pH of the above-mentioned sodium bicarbonate examination falls in 5.5, when emitted with a pH decrease compound.

The pH decrease agent of this invention is a compound which there is no toxicity at an alimentary canal, and takes out a hydrogen ion, or (usual acid) may induce the high amount of hydrogen ions from a local ring boundary and which is permitted pharmacologically. These compounds can also be used together. At least one sort of pH decrease agents used by this invention have 3.0 or less electric dissociation exponent preferably 4.2 or less. A pH decrease agent is wanted to have the water solubility which melts at least 30g to 100 ml of water at a room temperature.

There are an aluminium chloride and zinc chloride as an example of the compound which induces the high amount of hydrogen ions. Although it does not limit, the acid salt (for example, amino-acid-salt acid chloride) of amino acid and its derivative are

in the usual acid permitted pharmacologically. For example, acetylglutamic acid, an alanine, arginine, asparagine, Aspartic acid, a betaine, carnitine, carnosine, citrulline, Creatine, glutamic acid, GUISHIN, histidine, hydroxylysine, They are hydroxyproline, hypo taurine, isoleucine, leucine, lysine, methylhistidine, a norleucine, ornithine, phenylalanine, proline, a sarcosine, serine, taurine, threonine, tryptophan, tyrosine, and valine.

As other examples of a useful pH decrease agent, acetylsalicylic acid, acetic acid, ascorbic acid, There is carboxylic acid, such as citrate, boletic acid, glucuronic acid, a glutaric acid, glyceric acid, glycocholic acid, GURIKOKISHIRU acid, isocitric acid, isovaleric acid, lactic acid, maleic acid, oxaloacetic acid, oxalosuccinic acid, propionic acid, pyruvic acid, succinic acid, tartaric acid, and a valeric acid.

In this invention, others have phosphoric ester (for example, fructose 1,6-diphosphate, glucose 1,6-diphosphate, phosphoglyceric acid, and diphosphoglyceric acid) as a useful pH decrease agent, although not usually called "acid." It is used for polymer, such as CARBOPOL (a brand name, BF Goodrich) and polycarbophil, lowering pH. Although 5.5 or less pH value needed in the above-mentioned sodium bicarbonate examination is acquired, it can also use combining a pH decrease agent. In one example of a desirable embodiment, the acid chosen from the group which consists of acid salt of citrate, tartaric acid, and amino acid as at least one pH decrease agent of a medicinal composition is used.

When calcitonin salmon is a peptide activity agent, especially a ratio with the pH decrease agent to calcitonin salmon is effective. The weight ratio of the pH decrease agent to calcitonin salmon is 200:1. 800:1 and to be 2000:1 most preferably are desired preferably above.

It compares with the full weight (except for enteric coating) of a medicinal composition, and an absorption improver absorption improver is 0.1. It exists preferably in the quantity which constitutes -20.0 weight %. A desirable absorption improver is a surface-active agent which has an operation of both a soluble improver and an incorporation improver. Generally, in either of the oleophilic environment of the stratum mucosum which meets the aquosity environment or the intestinal wall to which the ingredient of this invention is emitted, or both, "a soluble improver" improves the dissolution ability of the ingredient. A "transfer (incorporation) improver" (it is the often same surface-active agent as a soluble improver) makes it easy that peptide passes an intestinal wall.

Within the limits of this invention, one or more absorption improvers exhibit only one function (for example, solubility), and one or more absorption improvers exhibit only other functions (for example, incorporation). It is also possible to use the compounds which improve the compound which improves solubility, the compound which improves incorporation, and/or both, and some of these mixtures. Although it is not the intention connected to theory, an incorporation improver, (1) The non-order of the hydrophobic region of the adventitia of an intestinal tract cell is increased, and it is thought that it acts more, without extending the pore radius between cells for the increase in enabling the transfer which passes along a cell, invading the membrane protein which brings about the transfer which passes along (2) cells, or the (3) Para cell transfer.

It is thought that a surface-active agent is useful as a soluble improver and an incorporation improver. For example, the thing which a detergent makes easy to melt into the aquosity environment to which all the (1) active ingredients were emitted by the beginning promptly, (2) In increasing the transformer cellularity or the Para cellularity shift which carried out improving the lipophilic property of this invention

ingredient and heightening the capability of the usual polar peptide activity agent which passes the epithelium barrier of helping-to the intestinal mucosa-shift or passage (3) brush border membrane, and (4) above, it is useful.

When a surface-active agent is used as an absorption improver, in order to make easy restoration to mixing and the capsule in a manufacturing process, it is preferred that it is fluid good powder.

Peptide with a constant surface-active agent fixed for the peculiar character (for example, the isoelectric point, a molecular weight, amino acid composition, etc.) of calcitonin salmon and other peptide and the best interaction are performed. Some things cause the electric charge portion of calcitonin salmon, and the interaction which is not desirable, bar the absorption, and actually bring about the fall of the bioavailability which is not desirable as a result. When it is going to increase the bioavailability of calcitonin salmon or other peptide, The surface-active agent used as an absorption improver, the anionic surface active agent which is (i) cholesterol derivatives. (for example, bile acid) and a (ii) cationic surface active agent (for example, acyl carnitine.) It is preferred to be chosen out of the group which consists of a mixture of phospholipid, a (iii) nonionic surface active agent, and a (iv) anionic surface active agent (what has especially a straight chain hydrocarbon field) and a negative charge neutralizer. Although it does not restrict, there are acyl carnitine, a SESHIRU pyridinehydrochloride, etc. in a negative charge neutralizer. As for especially an absorption improver, acid pH and melting in 3.0-5.0 are desirable. Calcitonin salmon and especially one desirable combination that acts well are mixing of a cationic surface active agent and the anionic surface active agent which is cholesterol derivatives.

Both both are solubility by acid pH.

Especially a desirable combination is with acid dissolution bile acid and a cationic surface active agent. Acyl carnitine and sucrose ester are good combination. When using some specific absorption improvers independently, a cationic surface active agent is desirable. Acyl carnitine (for example, lauroyl carnitine), phospholipid, and especially bile acid are the outstanding absorption improvers, and their acyl carnitine is especially so. The anionic surface-active agent which is a cholesterol derivative is also used in some the embodiments.

It is desirable to avoid an interaction with the peptide agent which blocks absorption into the blood of a peptide agent.

the time of using as an absorption improver of this invention, in order to press down the possibility of side effects -- a desirable detergent -- being biodegradable -- it is -- it is resorption nature (for example, bile acid, phospholipid, and/or which compound of acyl carnitine that may be recycled biologically).

It is especially biodegradability.

It is thought that acyl carnitine is especially useful to the increase in the Para cell migration. When using together bile acid (or other anion detergents lacking in straight chain hydrocarbon) with a cation detergent, calcitonin salmon shifts by passing along the inside of a cell wall, or a cell wall.

In a desirable absorption improver, (a) sodium salicylate, 3-methoxy salicylate, 5-methoxy salicylate and salicylate, such as a HOMOVA rate, (b) Taurocholic acid, taurodeoxycholic acid, deoxycholic acid, Cholic acid, glycolic acid, RISOKOETO, chenodeoxycholic acid, Bile acid, such as ursodeoxycholic acid,ursocholic acid, dehydrocholic acid, and FUJI Jin acid, (c) A nonionic surface active agent (Brij 36T, Brit52, Brit 56, Brij 76, Brit 96, Texaphor A6, Texaphor A14, Tezphor A60, etc.), for

example, polyoxyethylene ether, p-t-octylphenol polo KISHIETERIEN (Triton X-45, Triton X-100, Triton X114, Triton X-305, etc.), Nonylphenoxy POROKISHI ethylene (for example, Igepal CO system), polyoxy ETERU sorbitan ester (for example, Tween-20, Tween-80), the (d) anionic surface active agent, for example, dioctyl sodium sulfosuccinate, and (e) RISOHOSUHO lipid -- for example, Lysolecithin and RISOHOSUFACHIIRU ethanolamine, (f) acyl carnitine, An acyl choline and acylamino acid, for example, lauroyl carnitine, Myristoyl carnitine, palmitoyl carnitine, a lauroyl choline, A myristoyl choline, a palmitoyl choline, hexadecyl lysine, N-acyl phenylalanine, (g) water solubility phospholipids, for example, diheptanoly phospho FACHIIRU cholines, such as N-acyl glycine, dioctylphosphatidylcholine and (h) medium chain fatty acid (caprylic acid.) Chain glyceride while being a mixture of mono- ** II and triglyceride containing capric acid and lauric acid, (i) Ethylene-diamine tetraacetic acid, the (j) cationic surface active agent, For example, cetyl pyridinium chloride, fatty acid derivatives of the (k) polyethylene glycol, For example, there are Rubbra Sol, a RABURA fuck and (l) alkyl saccharide, for example, lauryl maltoside, lauroyl sucrose, myristoyl sucrose, and palmitoyl sucrose.

In some desirable embodiments, although it is not the intention connected to theory, a cation ion exchanger (for example, detergent) is used for improving solubility according to other possible mechanisms. Especially these can prevent calcitonin salmon or other peptide activity agents from combining with mucus. There are protamine chloride and other poly cations in a desirable cation ion exchanger.

It is desirable for other alternative ingredient water solubility barriers to separate a pH decrease agent from an acid resistance protection conveyance agent. In some of those examples, the usual drugs capsule is used for the purpose of providing this barrier. Although many water-soluble intestinal walls are not known and do not necessarily limit, there are hydroxypropylmethylcellulose and usual drugs gelatin.

In some desirable embodiments, nonspecific absorption (for example, combination to the intestinal tract mucus barrier of peptide) by lowering the required concentration of an expensive peptide activity agent to what decreases. There is other peptide (albumin, casein, soybean protein, other animality, vegetable protein, etc.). When adding, 1.0 to 10weight % of peptide is desirable to total medicinal composition (except for protection conveyance agent) weight. Preferably, not activity but the most desirable things of this second peptide are food peptide, such as soybean peptide, physiologically. Although it is not the intention connected to theory, when this second peptide works as a protease scavenger which competes with a peptide activity agent desirably for a protease interaction, a bioavailability may also increase. The second peptide also helps passage of the active compound which passes along liver.

All the medicinal compositions of this invention may be selectively contained in the size and quantity in which the usual drugs diluent, polysaccharide, lubricant, a gelatine capsule, a preservative, colorant, etc. are known ordinarily selectively.

Protection conveyance agent calcitonin salmon is protected from stomach protease, and what kind of carrier or conveyance agent dissolved so that other ingredients of this invention may be emitted in an intestinal tract is suitable, and obtains. The enteric coating of such many is known and useful to this invention. There is a cellulose acetate phthalate, hydroxypropyl methylethylcellulose succinate, hydroxypropylmethylcellulose phthalate, carboxy-methyl-ethyl-cellulose, and methacrylic acid-methyl methacrylate copolymer in the example. In some embodiments, an absorption improver and pH decrease agents, such as biologically active peptide, solubility, and/or an incorporation improver, are contained in

protection syrup adhesive enough, and it becomes possible to protect the ingredient of this invention and to pass along the stomach.

After the suitable enteric coating for protecting a peptide agent from stomach protease fills up a capsule with the ingredient of this invention, it is performed to a capsule, for example. In other embodiments, enteric coating is made by the outside of a tablet or is made by the outside of the particles of the active ingredient which was struck by the form of the tablet or with which the capsule (preferably covered with enteric coating in itself) was filled up.

It is dramatically desirable to emit all the ingredients of this invention from a carrier or a conveyance agent, and to stabilize them in an intestinal tract environment as simultaneous as possible. It is desirable for a conveyance agent or a carrier to emit an active ingredient in a small intestine. It is rare to cause the side effects which are not more desirable than the time of the incorporation improver which increases transformer cellularity or the Para cellularity shift being later emitted into a large intestine in a small intestine. However, this invention emphasizes that it is a small intestine that it is thought the same way that it is effective by a large intestine. In addition to the above-mentioned thing, many conveyance agents or carriers are known for this technical field. It is desirable to keep the quantity of enteric coating low (setting whether what we do with the simultaneous discharge of the ingredient of this invention especially to optimize).

Preferably, enteric coating is 30% or less of the weight of the emainder (the emainder is a medicinal composition except enteric coating) of a medicinal composition. 20% of the constituent weight which is not covered more preferably -- especially -- 12-20% -- it is . The conditions which should have enteric coating desirably are emitting all the ingredients of a medicinal composition within 30 minutes thoroughly, after increasing pH to 6.3 by the decomposition bath which prevents disassembly of the constituent of this invention by 0.1N HCl for at least 2 hours, and rotates this constituent 100 times for 1 minute.

the weight ratio to the absorption improver of other selection pH decrease agents -- desirable -- 3:1-20:1 -- more -- desirable -- 4:1-12:1 -- and it is 5:1-10:1 most preferably. The full weight of all the pH decrease agents in a desired medicinal composition and the total weight of a total absorption improver are contained in the above-mentioned desirable ratio. For example, a medicinal composition's content of two sorts of pH decrease agents and three sorts of absorption improvers will calculate the above-mentioned ratio about the weight which the weight which two sorts of pH decrease agents totaled, and three sorts of absorption improvers totaled.

It is desirable for a pH decrease agent, a peptide activity agent, and an absorption improver to distribute uniformly two or more the single compound in each category or compounds (either) in a medicinal composition. In one embodiment, a medicinal composition contains the granulation containing the medicine binder which has a peptide activity agent, a pH decrease agent, and an absorption improver.

In the desirable medicinal composition of manufacturing method this invention, 0.25 mg of calcitonin salmon, 400 mg (for example, available from Archer Daniels Midland Corp.) of granular citrate, There is a size OO gelatine capsule made to fill up with 50 mg (for example, available from SIGMA) of taurodeoxycholic acid and 50 mg (SIGMA) of lauroyl carnitine.

All the ingredients are the powder which can be added in every state at a mixer preferably and preferably to the final restoration to a gelatine capsule. Then, a mixer is operated for about 5 minutes until powder is mixed thoroughly. Subsequently, the longer one of a gelatine capsule is filled up with the mixed powder. Another portion

of a capsule is added and a capsule is shut exactly. Such a capsule is put into a coating machine (for example, Vector LDCS20/30 Laboratory Development Coating System (available from Vector Corp., Marion, and Iowa)) 500 or more. An enteric coating solution is built as follows. EUDRAGIT L30 D-55 (METASHI)

500 g of available enteric coating is measured from Maidan and Mass. 411 g of distilled water, 15 g of triethyl citrate, and 38 g of talc are added. Probably, the quantity of this coating will be enough to coat about 500 size OO capsules.

The weight of a capsule is measured and it puts on the drum of a coating machine. It is made to operate so that a drum (the capsule is included) may rotate this apparatus at 24-28rpm. The temperature of entrance spraying is about 45 °C preferably.

Discharging temperature is about 30 °C preferably.

The temperature of the capsule which is not coated is about 25 °C preferably. Air currents are per minute about 38 cubic feet.

The pipe from apparatus is inserted into the coating solution prepared as mentioned above. Subsequently, a pump is operated in order to supply a solution to a coating machine. Subsequently, coating is performed automatically. Although a coating amount measures ***** enough, in order to measure the weight of a capsule, apparatus can be suspended at any time. The usual coating is performed in 60 minutes. In order to dry the coated capsule, while apparatus is still operating, the pump is turned off for about 5 minutes. Subsequently, apparatus can be cut. It is better to carry out natural seasoning of the capsule for about two days, although capsule coating was completed now.

Since a high bioavailability is brought about by this invention, in medicine manufacture of this invention, the concentration of high-cost calcitonin salmon may be comparatively low.

The special example of manufacture is in the following embodiment.

Periodical administration is recommended when choosing calcitonin salmon as an active ingredient for the therapy of a patient's therapy *****. After administering calcitonin salmon hypodermically to Homo sapiens, it is promptly metabolized in the half-life for only 20 to 40 minutes. However, the useful effect in an osteoclast may be maintained for 24 hours or more, although it continues very long and a blood level falls quickly. After pouring in calcitonin salmon by the conventional dosage, there is nothing to a blood level which is usually detected in 2 hours or more. Therefore, it is preferred to medicate one week with a single dosage periodically for about five days. Hypodermic administration (100 international units) of calcitonin salmon brings about the peak serum concentration of about 250 pg per ml in many cases. It turns out with the low peak level of 10 pg per ml that the nasal administration (200 international units) of calcitonin salmon is effective for *****. Some patients have sued a certain digestive trouble for the high peak level (for example, 200 pg per ml, or more than it). Therefore, 10 - 150 pg per ml of blood serum salmon calcitonin peaks are 10 - 50 pg per ml more preferably. A serum level may be measured by the person skilled in the art with known radioimmunoassay. A doctor in charge supervises a patient's reaction and a calcitonin salmon blood level between the initial stages of a therapy (one to six months) especially, or can supervise the marker (a urination pyridinophosphorus or deoxypyridinoline) of an osteopathy. The doctor in charge can change a dosage to some extent in consideration of the metabolic turnover and reaction of each patient after that.

By the bioavailability which can be attained by this invention, only 100 - 1000 micrograms of calcitonin salmon per capsule, 100 - 400 micrograms of desirable concentration levels which internal use of calcitonin salmon defined above in blood can be attained using 100 - 200 micrograms especially preferably. Since a single capsule provides best simultaneous discharge of polypeptide, a pH decrease agent, and an absorption improver, in each administration, use of a single capsule is preferred. Since acid will decrease best the proteolysis nature attack on polypeptide which is not desirable if acid is emitted just after discharge of polypeptide, a single capsule is dramatically desirable. Almost simultaneous discharge is best attained by prescribing all the ingredients of this invention for the patient by the single lock or a single capsule. However, both this inventions include dividing acid in 2 which may be prescribed for the patient together by the method that the initial complement of all the ingredients is provided again, for example, or the capsule beyond it, and the desired quantity of an improver. The "medicinal composition" used on these Descriptions contains a perfect quantity suitable about the specific administration to the Homo sapiens patient not related, when how it is subdivided, as far as simultaneous administration is substantially concerned. The effect over the bioavailability which changed the specific parameter and was produced is shown in a series of following tables. Except for the Homo sapiens examination reported to this Description, a component amount may change what was written in this Description in consideration of the difference of the animal used for Homo sapiens and the animal model.

The * buffer solution pH method : before inserting cannula in a carotid artery, anesthesia was applied to the female Wistar rat (250 to 275 g) (each presentation n=3) by ketamine and KISHIRAJIN. Cannula is fixed to a directional valve, blood is extracted from there, and a physiological saline is put in. The median-line incision of the abdominal cavity was carried out, and the presentation of 0.5 ml was directly injected into the exposed duodenum. pH of the presentation was adjusted by mixing quantity with various equimolar concentration of citrate and sodium acid citrate. Blood (0.5 ml) was extracted before presentation administration and 5, 15, 30, 60, and 120 minutes afterward. The blood sample was applied to the centrifuge at 2600 g for 10 minutes, and the produced supernatant fluid plasma was kept at -20 **. The concentration of the calcitonin in plasma was measured by competition radioimmunoassay. The bioavailability (getting it blocked and comparing with the

intravenous dosage of calcitonin) was absolutely calculated from the field under the curve obtained from entry of the plasma concentration of the calcitonin as a time function.

A result and consideration: When the pH of buffer solution fell from 5 (presentation I) to 4 (presentation II), absolutely, the bioavailability increased 5 times and became 0.1% from 0.02%. When pH fell in three (presentation III), the bioavailability increased further 6.4 times absolutely. When pH fell in two, the bioavailability of calcitonin did not carry out the increase in a deer very only. When the pH of buffer solution fell from 5 to 3, the bioavailability of calcitonin increased 32 times on the whole.

Method: The duodenum of the rat to which anesthesia was applied as explanation of Table 1 indicated the presentation with an entire volume of 0.5 ml which consists of a constant rate of taurodeoxycholic acid and citrate of two different quantity was medicated. In order to measure the Para cell transport by using mannitol as a marker, it included in the presentation. The blood sample was extracted several times and it analyzed about calcitonin as mentioned above.

A result and consideration: The bioavailability of the calcitonin salmon prescribed for the patient under existence of 9.6 mg of citrate (I) was 0.25%, and, on the other hand, the bioavailability was 2.43% under existence of 48 mg of citrate (II). The bioavailability of calcitonin salmon increased about 10 times only by increasing the amount of citrate under presentation by 5 times under existence of the taurodeoxycholic acid of fixed quantity.

Method: The duodenum of the rat to which anesthesia was applied as the presentation with an entire volume of 0.5 ml which consists of an improver of citrate, calcitonin, and various kinds was indicated to explanation of Table 1 was medicated. In order to measure the Para cell transport by using mannitol as a marker, it included in the presentation V. The blood sample was extracted several times and it analyzed about calcitonin as mentioned above.

A result and consideration: Under the absence of an improver, the absolute bioavailability of calcitonin was 0.69%. The bioavailability increased 4.3 times by content (presentation VII) of water-soluble phospholipid, and it became 2.97%. The most effective improvers were sugar ester (presentation V), and the bioavailability of calcitonin was 5.83%. Use of the mixture (presentation III) of bile acid and a cation detergent, nonionic detergent (presentation IV), and acyl carnitine (presentation VI) brought about the bioavailability of the medium in 3.03 to 4.53% of range. A difference of the bioavailability of the calcitonin under existence of various kinds of

improvers is not important compared with having observed, when only citrate existed during a presentation and an improver did not exist.

Method: The duodenum of the rat to which anesthesia was applied as explanation of Table 1 indicated the presentation with an entire volume of 0.5 ml which consists of lauroyl carnitine, calcitonin, and other various compounds was medicated. The blood sample was extracted several times and it analyzed about calcitonin as mentioned above.

A result and consideration: (The presentation I) and the absolute bioavailability of calcitonin were 0.096% in the absence of citrate or an improver. Under the existence of 5 mg of lauroyl chloride carnitine, (the presentation II) and the bioavailability increased 1.8 times and were 0.17%. When citrate was added to lauroyl carnitine (presentation III), the bioavailability increased further 27 times and became 4.53%. Even if it decreased the quantity of the lauroyl carnitine instead of citrate 5 times (presentation IV), the bioavailability of calcitonin salmon did not decrease intentionally. When 5 mg of diheptanoly phosphatidyl calls were added to the presentation III and the presentation V was built, the bioavailability increased slightly (1.4 times). When citrate was replaced with 25 mg of cow serum albumin (presentation VI), the bioavailability decreased from 4.53% (presentation III) to 0.42%. These results show the synergistic effect between improvers like a pH decrease substance like citrate, and lauroyl carnitine as a whole.

Method: Improvement blood vessel access port Modified Vascular Access Ports was transplanted to the male duodenum, ileum, and large intestine of a beagle by the surgical operation. The barrier membrane / ***** object of the port were transplanted to hypodermic, and it was used as a part of the administration sake of a calcitonin presentation. Before medicating a conscious dog with a calcitonin presentation, behind, the port was flushed by the presentation of 2 ml without calcitonin. Blood (2 ml) was extracted from the vessel catheter pipe of the leg vein for 2 hours every [of $t = 30$ before calcitonin administration, 15 and 0, and 5, 10, 20, 30, 40, 50 and 60 after administration] 15 minutes. The blood sample was applied to centrifugal separation at 2600 g for 10 minutes, and the produced supernatant fluid plasma was kept at -20°C . The calcitonin concentration in plasma was measured by competition radioimmunoassay. The bioavailability (getting it blocked and comparing with the intravenous dosage of calcitonin) was absolutely calculated from the field under the curve obtained from entry of the plasma concentration of the obtained time function.

A result and consideration: The absolute availability of calcitonin (I) prescribed for the patient with water was 0.015%. The bioavailability of (II) and calcitonin increased 25 times under the existence of 192 mg of citrate. When 20 mg of taurodeoxycholic acid was added in presentation (III), absolutely, the bioavailability increased further 2.2 times and became 0.81%. The combination of a pH decrease compound, citrate and an improver, and taurodeoxycholic acid increased the absolute availability of calcitonin salmon by 54 times on the whole.

filling up starch and a gelatine capsule with the presentation which was shown as for the method -- a coating iron pot -- hydroxypropylmethylcellulose phthalate 50 (I): It coats with either of the II, III (1% weight increment), or Eudragit L30 D-55 (IV) (10% weight increment) for 60 minutes. . The stability of the capsule in 1N HCl was measured by the dissolution bath using the basket method. The capsule was respectively given to at least two dogs by taking orally, blood was extracted, and it analyzed about calcitonin salmon as mentioned above.

Result: The bioavailability of 10 mg of calcitonin which was mixed with 100 mg of citrate and 100 mg of taurodeoxycholic acid and with which starch capsule (I) was filled up was 0.07%. When the same presentation was given to the dog by gelatine capsule (II), the bioavailability of calcitonin salmon increased to 0.26%. When the quantity of citrate was increased by 6 times and the quantity of the quantity of calcitonin was decreased 50%, the bioavailability of (III) and calcitonin increased about 3 times.

Enteric coating is changed into Eudragit L30 D-55 from the hydroxypropylmethylcellulose phthalate 50, When it set without changing

methacrylate polymer and a presentation, the bioavailability of (IV) and calcitonin salmon increased to 1.48% from 0.62%. When enteric coating was changed into Eudragit L 30 D-55 from the hydroxypropylmethylcellulose phthalate 50, the stability of the capsule in .1N HCl increased. The peak calcitonin level which has appeared with this stability that increased at the time point after in the blood of a dog was brought about. On the other hand, it has suggested this capsule of the stability with which the capsule IV was improved being completely stable in the stomach of a dog, and carrying out the opening in intestines by suggesting that these capsules may be carrying out the opening of the instability of the capsule I, II, and III in HCl in the stomach of a dog. This shows that a certain amount of amount of the minimum enteric coating is preferred. Simultaneously, superfluous coating may delay discharge of calcitonin after discharge of other important ingredients (for example, acid or a detergent). Preferably, enteric coating is made at 5-15% to the weight of non-coating composition.

Method: The starch capsule was filled up with 138 mg of citrate, 105 mg of taurodeoxycholic acid, and 10.5 mg of calcitonin salmon. The capsule was processed by the coating iron pot for 20 minutes with the hydroxypropylmethylcellulose phthalate 50, and it was kept at 4 **. Subsequently on the morning of a check date, one cup of glass gave the candidate of the fast orange juice with one capsule. The blood sample was extracted at capsule administration 15 quota and the directed time after calcitonin capsule ingestion. The calcitonin concentration in blood was measured by competition radioimmunoassay. The bioavailability (comparing with the intravenous dosage of calcitonin) was absolutely calculated from the field under the curve obtained from entry of the plasma concentration of the calcitonin of a time function.

Result: When Homo sapiens was independently medicated with 10 mg of calcitonin

salmon, the serum level which can detect calcitonin salmon was not obtained. However, when the constituent of this invention indicated to Table 7 was given, after taking in a capsule, the maximum level of calcitonin was detected in the blood for 30 to 60 minutes. The maximum density of the calcitonin in blood was 70 to 497 pg/ml. In five persons' object, the average peak concentration of calcitonin was 173 pg(s)/ml in $t=30$ minutes. Absolutely, the bioavailability was 0.02 to 0.06% of range, and was 0.03% of a group mean.

Method: The duodenum of the rat to which anesthesia was applied as explanation of Table 1 indicated the presentation with an entire volume of 0.5 ml which consists of either $[\text{arg}^8]$ -vasopressin, recombination calcitonin salmon or a Homo sapiens insulin and the appointed additive agent was medicated. The blood sample was removed several times and it analyzed about the appointed peptide as mentioned above.

A result and consideration: The absolute bioavailability of the $[\text{arg}^8]$ -vasopressin prescribed for the patient into the duodenum by the absence of the additive agent was 0.38%. The bioavailability of vasopressin is 8 when citrate and lauroyl carnitine are added to a presentation.

It increased to 1%. Under acid and the absence of an improver, the bioavailability of calcitonin is 0.096% and is lower than the thing only about vasopressin. However, when citrate and lauroyl carnitine were included in the presentation, absolutely, availability increased 50 times and became 4.53%. Under the absence of citrate, the Homo sapiens insulin could not dissolve in water. Under existence of citrate, the

absolute bioavailability of the Homo sapiens insulin which all the peptide dissolved easily and was prescribed for the patient into the duodenum was 0.07%. When lauroyl carnitine was contained in a presentation, the absolute bioavailability of the insulin increased 10 times. The bioavailability of only peptide is a maximum of 0.38%, and these results show that the peptide bioavailability increased to 8.1%, if an improver like organic acid like citrate and lauroyl carnitine is included.

Method: The gelatine capsule was filled up with 473 mg of citrate, 75 mg of taurodeoxycholic acid, 75 mg of lauroyl carnitine, and 0.82 mg of calcitonin salmon. The capsule was processed by the coating iron pot for 60 minutes by Eudragit L30-D55, and it was kept at 4 °C.

Subsequently on the morning of a check date, one cup of glass gave the candidate of the fast orange juice with one capsule. The blood sample was extracted at capsule administration 15 quota and the directed time after calcitonin capsule ingestion. The calcitonin concentration in blood was measured by competition radioimmunoassay. The bioavailability (getting it blocked and comparing with the intravenous dosage of calcitonin) was absolutely calculated from the field under the curve obtained from entry of the plasma concentration of the calcitonin of a time function.

Result: After taking in the capsule, the maximum level of calcitonin was detected in the blood of 50 to 180 minutes after. The peak concentration of the calcitonin in blood was 211 to 623 pg/ml. The average maximum density (C_{max}) of the calcitonin five persons' object is 411 pg(s)/ml, and is about 5 to 10 times as high as a target therapy plasma level. Absolutely, the bioavailability was 0.14 to 0.68% of range, and was 0.38% of a group mean. From these results, even if a peptide content decreases about 10 times, the bioavailability of sCT is compared with what was obtained in Table 7, Eudragit L30-D55 is used [using a gelatine capsule instead of a starch capsule,] instead of hydroxymethylcellulose phthalate as enteric coating, Increasing the

quantity of citrate and by including lauroyl carnitine in a presentation show having increased 10 times.

Although this invention has indicated the specific embodiment, probably, change, improvement, and other use of many others will be clear for a person skilled in the art. Therefore, this invention in particular is not limited when indicated by this Description, but it is limited by only Claim.

[Claim(s)]

1. It is a medicinal composition for taking orally of a physiological biologically-active-peptide agent, (A) This biologically-active-peptide agent of a remedially effective quantity;
(B) At least one sort of pH decrease agents permitted pharmacologically;
(C) At least one sort of absorption improvers effective for promoting a bioavailability of this active agent;
(D) An acid resistance protection conveyance agent effective for transporting this medicinal composition through a patient's stomach while preventing contact with this biologically active peptide and stomach protease;
(Among them, when this constituent is added to 10 ml of 0.1M sodium bicarbonate solution, a pH decrease agent is the quantity which becomes enough to make the pH of this solution or less into 5.5, and exists in this medicinal composition)
A ***** medicinal composition.
2. Medicinal composition of Claim 1 in which this pH decrease agent exists in sufficient quantity for this medicinal composition to be added to quantity of 10 ml of 0.1M sodium bicarbonate solution, and sometimes make pH of this solution less than 3.5.
3. Medicinal composition of Claim 1 in which this protection conveyance agent exists by 30% or less of weight to weight of the remainder of this medicinal composition.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平11-508606

(43) 公表日 平成11年(1999) 7月27日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 9/00		A 6 1 K 9/00	X
38/11		47/24	E
38/23		37/30	
38/28		37/26	
47/24		37/34	
		審査請求 有	予備審査請求 有 (全 44 頁)

(21) 出願番号	特願平9-532859	(71) 出願人	ユニジーン・ラボラトリーズ・インコーポ レイテッド
(86) (22) 出願日	平成9年(1997) 3月14日		アメリカ合衆国07004-2193ニュージャ ージー州フェアフィールド、リトル・フォー ルズ・ロード110番
(85) 翻訳文提出日	平成10年(1998) 9月14日	(72) 発明者	スターン, ウィリアム
(86) 国際出願番号	PCT/US 97/04024		アメリカ合衆国07670ニュージャージー州 テナフライ、サリー・レイン113番
(87) 国際公開番号	WO 97/33531	(72) 発明者	シリガン, ジェイムズ・ピー
(87) 国際公開日	平成9年(1997) 9月18日		アメリカ合衆国07083ニュージャージー州 ユニオン、カーテレット・アベニュー985 番
(31) 優先権主張番号	08/616, 250	(74) 代理人	弁理士 青山 葆 (外1名)
(32) 優先日	1996年3月15日		最終頁に続く
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 経口用ペプチド薬剤

(57) 【要約】

経口投与されるべきペプチド活性剤のバイオアベイラビリティが、腸管内へのペプチドの目標とする放出を提供する医薬組成物により高められる。これは胃を経て本発明の成分を移送する酸抵抗保護運搬剤による。組成物は吸収増進剤および局所腸内 pH を下げるのに十分な量の pH 低下剤を含む。すべての成分はペプチドと共に腸管内に一緒に放出される。

【特許請求の範囲】

1. 生理的活性ペプチド剤の経口用の医薬組成物であって、
 - (A) 治療上効果的な量の該活性ペプチド剤；
 - (B) 少なくとも1種の薬学的に許容されるpH低下剤；
 - (C) 該活性剤のバイオアベイラビリティを促進するのに効果的な少なくとも1種の吸収増進剤；
 - (D) 該活性ペプチドと胃プロテアーゼとの接触を防止する間、患者の胃を通して該医薬組成物を移送するのに効果的な酸抵抗性保護運搬剤；(うち、pH低下剤は、該組成物を0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液のpHを5.5以下にするのに十分となる量で、該医薬組成物中に存在する)
を含む医薬組成物。
2. 該医薬組成物が0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlの量に加えられときに該水溶液のpHを3.5以下にするのに十分な量で、該pH低下剤が存在する、請求項1の医薬組成物。
3. 該保護運搬剤が該医薬組成物の残余の重量に対して30%以下の重量で存在する、請求項1の医薬組成物。
4. 該腸溶コーティングが該医薬組成物の残余の重量に対して20%以下の重量で存在する、請求項1の医薬組成物。
5. 該腸溶コーティングが該医薬組成物の残余の重量に対して10%～20%の重量で存在する、請求項1の医薬組成物。
6. 該保護運搬剤が、0.1N HCl中で少なくとも2時間、該医薬組成物の分解を防止し、該組成物を1分間100回転する分解浴でpHを6.3まで増加した後、30分以内に該医薬組成物の全成分を完全に放出し得るのに十分である、請求項1の医薬組成物。
7. 該吸収増進剤が界面活性剤である、請求項1の医薬組成物。
8. 該界面活性剤が吸収性または生分解性である、請求項1の医薬組成物。
9. 該界面活性剤がアシルカルニチン、ホスホリピドおよび胆汁酸よりなる群か

ら選ばれる、請求項8の医薬組成物。

10. 該増進剤がアシルカルニチンである、請求項9の医薬組成物。

11. さらにスクロースエステルを含有する、請求項10の医薬組成物。

12. 該吸収増進剤が (i) コレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤、(ii) 負電荷中和剤とアニオン界面活性剤との混合物、(iii) 非イオン界面活性剤、および(iv) カチオン界面活性剤よりなる群から選ばれる界面活性剤である、請求項1の医薬組成物。

13. 該吸収増進剤がカチオン界面活性剤およびコレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤よりなる群から選ばれる、請求項1の医薬組成物。

14. 該医薬組成物が少なくとも2種の吸収増進剤を含有し、その一つがカチオン界面活性剤であり、他の一つがコレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤である、請求項1の医薬組成物。

15. 該アニオン界面活性剤が酸溶解性胆汁酸である、請求項14の医薬組成物。

16. さらに該ペプチド活性剤のバイオアベイラビリティを高めるのに効果的な量の第二ペプチドを含む、請求項1の医薬組成物。

17. さらに該pH低下剤を該保護運搬剤から分離する水溶性障壁を含む、請求項1の医薬組成物。

18. 該医薬組成物が4.2以下の pK_a を有する少なくとも1種のpH低下剤を含有する、請求項1の医薬組成物。

19. 少なくとも1種のpH低下剤が室温で水100mlに対し少なくとも30gの水溶性を有する、請求項1の医薬組成物。

20. 該腸溶コーティング以外の全成分が均一に分散している、請求項1の医薬組成物。

21. 該医薬組成物が医薬バインダー含有の顆粒を含み、該バインダー中に該pH低下剤、該吸収増進剤および該ペプチド活性剤が均一に分散している、請求項20の医薬組成物。

22. 該医薬組成物が該吸収増進剤に対する該pH低下剤の重量比3:1-20:1の固体の用量形態である、請求項1の医薬組成物。

23. 該医薬組成物が該吸収増進剤に対する該pH低下剤の重量比5:1-1

0:1の固体の用量形態である、請求項1の医薬組成物。

24. 該pH低下剤がクエン酸、酒石酸およびアミノ酸の酸性塩よりなる群から選ばれる、請求項1の医薬組成物。

25. 該pH低下剤が300mgより少なくない量で存在する、請求項1の医薬組成物。

26. 該pH低下剤が400mgより少なくない量で存在する、請求項25の医薬組成物。

27. 該ペプチド剤がバゾプレシンである、請求項1の医薬組成物。

28. 該ペプチド剤がサケ・カルシトニンである、請求項1の医薬組成物。

29. 該ペプチド剤がインスリンである、請求項1の医薬組成物。

30. 該保護運搬剤が粘性保護シロップである、請求項1の医薬組成物。

31. 該組成物がサケ・カルシトニンの経口用であって、

(A) 治療上効果的な量の該サケ・カルシトニン；

(B) 少なくとも1種の薬学的に許容されるpH低下剤；

(C) 該サケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティを促進するのに効果的な少なくとも1種の吸収増進剤；

(D) 腸溶コーティング；

(うち、pH低下剤は、該組成物を0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液のpHを5.5以下に下げるのに十分となる量で、該医薬組成物中に存在する)

を含む、請求項1の医薬組成物。

32. 該pH低下剤の該サケ・カルシトニンに対する重量比が少なくとも200:1である、請求項31の医薬組成物。

33. 該pH低下剤の該サケ・カルシトニンに対する重量比が少なくとも800:1である、請求項31の医薬組成物。

34. 該pH低下剤の該サケ・カルシトニンに対する重量比が少なくとも2000:1である、請求項31の医薬組成物。

35. 少なくとも一つのpH低下剤が4.2より大きくないpKaを有し、室温で100mlに少なくとも30g溶ける水溶性を有する、請求項31の医薬組成物。

36. 水溶解性障壁が該pH低下剤を該腸溶コーティングから分離する、請求項31の医薬組成物。

37. 該サケ・カルシトニン、該pH低下剤および吸収増進剤が均一に分散している、請求項31の医薬組成物。

38. 該腸溶コーティングが該腸溶コーティングを除く該医薬組成物の残余の重量に対して30%以下の重量で存在する、請求項28の医薬組成物。

39. 該組成物がサケ・カルシトニンの経口用であって、

(A) 治療上効果的な量の該サケ・カルシトニン；

(B) 4.2より大きくないpKaを有し、室温で100mlに少なくとも30g溶ける水溶性を有する、少なくとも1種の薬学的に許容されるpH低下剤；

(C) 該サケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティを促進するのに効果的な少なくとも1種の吸収増進剤；

(D) 該医薬組成物の残余の重量に対して10%－20%の重量で存在する腸溶コーティング；

(E) 該pH低下剤を該腸溶コーティングから分離する水溶性腸壁；

(うち、pH低下剤は、該組成物を0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液のpHを5.5以下にするのに十分となる量で、該医薬組成物中に存在する)

を含む、請求項1の医薬組成物。

40. 経口投与された治療的ペプチド活性剤のバイオアベイラビリティを高めるための方法であって、該ペプチド活性剤が少なくとも1種のpH低下剤および少なくとも1種の吸収増進剤と共に、胃プロテアーゼと該ペプチド剤との接触を実質的に防止する酸抵抗保護運搬剤の保護の下に該患者の口および胃を経て、次いで該ペプチド活性剤、pH低下剤および吸収増進剤が腸管中に選択的に放出される方法（うち、該pH低下剤および他の化合物は、0.1M炭酸水素ナトリウム水

溶液10mlに加えたときに、該溶液のpHを5.5以下に下げるのに十分となる量で、該腸管中に放出される)。

41. 該pH低下剤は、全成分を0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えた

たときに、該溶液のpHを3.5以下にするのに十分となる量で、存在する、請求項40の方法。

42. 該保護運搬剤が、0.1N HCl 中で少なくとも2時間、他の成分の放出を防止し、該保護運搬剤および他の成分を1分間100回転する分解浴でpHを6.3まで増加した後、30分以内に全成分を完全に放出し得るのに十分である、請求項40の方法。

43. 該吸収増進剤がカチオン界面活性剤およびコレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤よりなる群から選ばれる、請求項40の方法。

44. 該pH低下剤が4.2より大きくないpKaを有し、室温で100mlに少なくとも30g溶ける水溶性を有する、請求項40の方法。

45. 該吸収増進剤に対する該pH低下剤の重量比が3:1-20:1である、請求項40の方法。

46. 該pH低下剤が300mgより少ない量で存在する、請求項40の方法。

47. 該ペプチド剤がサケ・カルシトニンである、請求項40の方法。

48. 該pH低下剤の該サケ・カルシトニンに対する重量比が少なくとも800:1である、請求項47の方法。

49. 該pH低下剤の該サケ・カルシトニンに対する重量比が少なくとも200:1である、請求項47の方法。

50. 該pH低下剤の該サケ・カルシトニンに対する重量比が少なくとも2000:1である、請求項47の方法。

【発明の詳細な説明】**経口用ペプチド薬剤****発明の背景****発明の分野**

本発明は、活性化合物がその分子構造中に複数のアミノ酸および少なくとも1つのペプチド結合を含有する経口用ペプチド薬剤、および経口投与されたときに該ペプチド活性化合物のバイオアベイラビリティを高める方法に関する。

関連技術の説明

多数のヒトホルモン、神経伝達物質および他の重要な生物学的化合物は、その分子構造の実質的部分としてペプチドを有する。多くの疾患は、患者におけるこれらのペプチド化合物のレベルを上昇せしめることに積極的に応答する。この生物学的関連ペプチドの治療的に効果的な量が患者に種々の方法で投与され得る。しかし、さらに下記に論じるように、この種の活性化合物について好ましい経口投与は非常に難しい。

例えば、サケ・カルシトニン[®]は骨からのカルシウム消費を低下せしめるペプチドホルモンである。骨関連疾患およびカルシウム障害（骨粗しょう症、パジェット病、悪性高カルシウム血症など）に使用されたとき、このカルシトニンは骨密度を保持するのを助ける効果を有する。多くの種類のカルシトニンが単離されている（ヒト・カルシトニン、サケ・カルシトニン、ウナギ・カルシトニン、エルカトニン、ブタ・カルシトニンおよびニワトリ・カルシトニン）。種々のカルシトニン間で構造的相同性は顕著でない。例えば、ヒト・のカルシトニンをつくるアミノ酸とサケ・カルシトニンをつくるアミノ酸とでは、50%しか同一でない。しかし、分子構造における相違にもかかわらず、サケ・カルシトニンが上記したようにヒト・カルシトニン応答疾患の処置に使用し得る。

先行技術で用いられるペプチド医薬は、しばしば注射または経鼻で投与されている。インスリンは注射で頻繁に投与されるペプチド医薬の1例である。経口投与は、より好ましいのであるが、ペプチド活性化合物が胃および腸で非常に変性を受け易いので、問題になり勝ちである。例えば、先行技術では、経口投与され

たときサケ・カルシトニンの再製可能な血中レベルを達成することが報告されていないようである。これは、サケ・カルシトニンが消化管において十分な安定性を欠き、腸壁を経て血中へあまり移送されないことによると、考えられる。しかし、注射および経鼻投与は、経口に比して明らかに不便であり、また患者に不快感を与える。この不便または不快感のために、しばしば処置療法において患者が実質的に服用しないことが起きる。このように、インスリン、サケ・カルシトニンおよび本明細書に詳記する他の物質などのペプチド医薬のより効果的かつ再製可能な経口投与について技術的必要性がある。

胃および腸両方のタンパク分解性酵素は、ペプチドが血流に吸収される前に、それを変性し、不活性化する。胃のプロテアーゼ（典型的に酸性pH最適を有する）によるタンパク分解性変性を免れたすべてのペプチドは、小腸のプロテアーゼおよびすい臓で分泌される酵素（典型的に中性から塩基性pH最適を有する）に直面する。サケ・カルシトニンなどのペプチドの経口投与から起きる特殊な難点に、比較的大きい分子サイズおよびその有する電荷分布がある。これは、サケ・カルシトニンが腸壁に沿った粘膜を浸透し、あるいは腸の刷子縁膜を通り血中へ入るのをさらに困難にする。これらの付加的な問題が一層バイオアベイラビリティを制限する。

発明の概要

本発明の目的は、医薬ペプチド、例えばインスリン、サケ・カルシトニン、バゾプレシンおよび本明細書で述べる他の物質などの例えば生理的活性ペプチド剤を確実に運送するための治療的に効果的な経口医薬組成物を提供することである。

本発明の更なる目的は、該ペプチドのバイオアベイラビリティを高めるための治療法を提供することである。

本発明の更なる目的は、サケ・カルシトニンを経口投与することにより骨関連疾患およびカルシウム障害を処置する方法を提供する。

ひとつの態様において、本発明は、

- (A) 治療上効果的な量の該活性ペプチド剤；
- (B) 少なくとも1種の薬学的に許容されるpH低下剤；

(C) 該活性剤のバイオアベイラビリティを促進するのに効果的な少なくとも1種の吸収増進剤；

(D) 該活性ペプチドと胃プロテアーゼとの接触を防止する間、患者の胃を通して該医薬組成物を移送するのに効果的な酸抵抗性保護運搬剤；

(うち、pH低下剤は、該組成物を0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液のpHを5.5以下にするのに十分となる量で、該医薬組成物中に存在する)

ことを含む生理的活性ペプチド剤の経口用の医薬組成物を提供する。

好ましいペプチド活性剤は、限定するものでないが、インスリン、バソプレシン、サケ・カルシトニンおよび下記する他の物質を含み、特にサケ・カルシトニンを含む。

他の実施態様において、本発明は経口的に投与された治療的ペプチド活性薬剤のバイオアベイラビリティを高めるための方法を提供し、その方法は、該ペプチド活性薬剤が少なくとも1種のpH低下剤および少なくとも1種の吸収増進剤と共に、胃プロテアーゼと該ペプチド剤との接触を実質的に防止する酸抵抗性保護運搬剤の保護の下に該患者の口および胃を経て、次いで該ペプチド薬剤、pH低下剤および吸収増進剤が腸管中に放出されることを含む。

なお、該pH低下剤および共に放出される物質は、0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えられると、該水溶液のpHを5.5以下にするのに十分な量で、腸内に放出される。

他の実施態様において、本発明は経口的に与えられたサケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティを高めるための方法を提供し、その方法は、該カルシトニンが少なくとも1種のpH低下剤および少なくとも1種の吸収増進剤と共に、胃プロテアーゼと該カルシトニンとの接触を実質的に防止する腸溶コーティングの保護の下に該患者の口および胃を経て、次いで該サケ・カルシトニン、pH低下剤および吸収増進剤が腸管中に放出されることを含む。

なお、該pH低下剤は、該運搬剤により該腸管内に、0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlの量に加えられると、該水溶液のpHを5.5以下にするのに十分な量で、放出される。

本発明は、(1) 胃プロテアーゼ (典型的に酸性 pH で最も活性) および (2) 腸およびすい臓プロテアーゼ (典型的に塩基性から中性の pH で最も活性) によるタンパク分解からペプチドを同時に保護することでペプチド活性化合物のタンパク分解性変性が起きる可能性を減少すると、考えられる。

また、本発明が過程を促進することで、タンパク分解性変性からのペプチド保護が続けられ、ペプチドが腸刷子縁膜を通して血中に入ると考えられる。

酸抵抗性保護運搬剤は、胃の酸性作用プロテアーゼからペプチド活性剤を保護する。有意な量の酸 (ペプチド活性剤がこれと混ざり合っている) が、腸内プロテアーゼの最適活性域以下に pH を下げることにより腸における中性から塩基性作用プロテアーゼ (例えば、刷子縁膜のルミナルまたは消化性プロテアーゼ) の活性を減少する。本発明の吸収増進剤は、ペプチド剤が腸粘膜層および刷子縁膜を経て血中へ運ばれるのを高めるのに用いられる。

本発明による吸収増進剤と pH 低下剤の同時使用は、吸収増進剤単独あるいは pH 低下剤単独に比してバイオアベイラビリティに驚くべき相乗効果をもたらす。後記する表 4 の処方 I (サケ・カルシトニン単独)、表 3 の処方 I (サケ・カルシトニンおよび pH 低下剤) および表 4 の処方 II (サケ・カルシトニンおよび吸収増進剤) を表 4 の処方 III (サケ・カルシトニン、pH 低下剤および吸収増進剤) と比較する。

本発明の他の特徴および利点は、下記の発明の詳細な説明から明らかになるであろう。

発明の詳細な説明

本発明によって、ペプチド活性成分での処置を要する患者にその経口医薬組成物が適当な用量で提供される。組成物は製薬における通常の大きさの錠剤またはカプセルが好ましいが、必ずしもそれに限定されない。その投与の用量および回数は詳細に後記する。効果がある患者は、ペプチド含有化合物のレベルが上昇することに好ましく応答する障害を有する者である。例えば、本発明による経口のサケ・カルシトニンは、カルシウム障害または骨疾患の患者を処置するのに使用される。本発明は、例えば、骨粗しょう症、パジェット病、高カルシウム症などを経口のカルシトニン、好ましくはサケ・カルシトニンで処置するのに、使用さ

れる。

サケ・カルシトニンは、多くの理由から本発明における使用に好ましい活性成分である。例えば、ヒトの患者に使用されても、ヒト・カルシトニンを上回る利点を有する。ヒト骨粗しょう症の処置にヒト・カルシトニンの代わりにサケ・カルシトニンを使用して得られる利点は、効力が大きく、無痛覚性で、半減期が長い。サケ・カルシトニンは、処置において天然のヒト・カルシトニンで要する量よりも低い量でより効果的である。サケおよびヒトのカルシトニンに実質的な相同性はなく、両カルシトニンのアミノ酸配列は50%しか同じでない。

本発明者は、本発明により経口投与されたときに、サケ・カルシトニンがその分子量から予測されるよりもはるかに高いバイオアベイラビリティを有することを見出した。本発明者は、その内部比較試験で、本発明の経口処方においてサケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティが類似のペプチド分子量を有する副甲状腺ホルモンのそれ（アミノ酸は、前者（sCT）が32に対し、後者（PTH）が34）を有意に越えることを発見した。

理論に結びつける意図でないが、本発明の医薬組成物は、バイオアベイラビリティに対する一連の別々かつ関連のない天然の障壁を克服すると考えられる。医薬組成物の種々の成分が各々に適当なメカニズムでもって別々の障害を克服し、ペプチド活性成分のバイオアベイラビリティに相乗作用をもたらす。下記するように、サケ・カルシトニンおよび他のペプチドに固有の化学的および物理的性質によって、そのバイオアベイラビリティを強化するのに特定の吸収増進剤が効果的となる。

ペプチド活性化合物は経口投与され得る。本発明により、胃プロテアーゼ（その大部分はpH酸性領域で活性である）および腸または膵臓のプロテアーゼ（その大部分はpH中性から塩基性の領域で活性である）によるペプチドのタンパク分解性変性が減少する。溶解性増進剤は腸上皮障壁をペプチド活性剤が通過するのを促進する。

さらに、理論とに結びつける意図でないが、本発明によって、サケ・カルシトニンまたは他の活性ペプチドとそれを変性し得る何らかの胃プロテアーゼとの接触を実質的に防止するために適当な酸抵抗性保護運搬剤の下にペプチドが移送さ

れる。本発明の医薬組成物が胃を経て、塩基性から中性のpHである腸に入ると、そこではプロテアーゼが最適pH塩基性から中性を有するものであるが、腸溶コーティングまたは他の運搬剤がペプチドおよび酸（互いに接して）を放出する。

この酸が局所的腸内pH（活性薬剤が放出される場所）を多くの腸内プロテアーゼにとっての最適領域より低いレベルに下げると考えられる。このpH低下は腸内プロテアーゼのタンパク分解能を減少せしめ、起こり得る変性からペプチドを保護する。これらのプロテアーゼの活性は本発明で提供された一時的な酸性環境により減少する。局所的腸内pHが一時的に5.5以下、好ましくは4.7以下、さらに好ましくは3.5以下に下がるように十分な酸が提供されるのが望ましい。下記する炭酸水素ナトリウム試験（“pH低下剤”なる表題の章）が必要とする酸の量の指標である。腸内pHの低下状態は、少なくともペプチドのある量が腸壁から血流に入る機会を得るまで、タンパク分解性変性からペプチドを保護するのに十分な時間、持続するのが好ましい。サケ・カルシトニンでの実験によると、活性成分が十二指腸、回腸または結腸に直接的に注射されたとき、サケ・カルシトニンの血中濃度は5-15分の T_{max} を示す。本発明の吸収増進剤は、タンパク分解活性が減少した状態において、血中へのペプチド吸収を相乗的に促進する。

本発明によりバイオアベイラビリティが高まると考えられるメカニズムは、医薬組成物の活性成分ができるだけ同時に放出されることにある。この目的のために、好ましくは、胃プロテアーゼに対しての保護の提供に合わせて腸溶コーティングの量をできるだけ低く保つことが望ましい。このようにして、ペプチドの放出またはそれに近接した時間での他の成分の放出に対し腸溶コーティングの影響が小さくなる。腸溶コーティングは、医薬組成物の残りの成分（すなわち、腸溶コーティングを除外した組成物の他の成分）の30重量%以下で通常は加えるべきである。腸溶コーティングは未コーティング成分の重量に対し、好ましくは20%、さらに好ましくは10-20%でなされる。

溶解性増進剤および／または移送増進剤であり得る吸収増進剤（詳細は下記する）は、腸管から血中へのペプチド剤の移送を助け、腸内pHが低下し、腸内タンパク分解能が低下している時間帯に移送ができるだけ起きるように過程を進行

する。多くの界面活性剤が溶解性増進剤および移送（取り込み）増進剤の両方と

して作用し得る。さらに、理論に結びつける意図でないが、溶解性増進剤は、（1）腸内水性部分への本発明活性成分の、できるだけ同時の放出、（2）腸壁に沿った粘膜層における、および移送時を通じてのペプチドのよりよい溶解性を提供すると考えられる。ペプチド活性成分が腸壁に到達すると、取り込み増進剤は、トランス細胞性またはパラ細胞性移行のいずれかを経て、腸刷子縁膜を通して血中へのよい移行を提供する。詳細を下記するように、多くの好ましい化合物が両機能を提供する。その場合、両機能を利用した好ましい実施態様は、医薬組成物に一つの追加化合物を加えるだけで、目的を達成し得る。他の実施態様においては、異なる吸収増進剤が別個に2機能を提供する。

本発明の医薬組成物の好ましい成分の各々についてはそれぞれ後ほど述べる。複数のpH低下剤または複数の増進剤の組み合わせも単独のpH低下剤および／または単独の増進剤と同様に用いることができる。いくつかの好ましい組み合わせについても後記する。

ペプチド活性成分

本発明により経口投与で利点を有するペプチド活性成分には、生理的に活性で、その分子構造中に複数のアミノ酸および少なくとも1個のペプチド結合を持つすべての治療薬剤が含まれる。いくつかのメカニズムによって、本発明は、活性成分の1以上のペプチド結合を開裂するであろうプロテアーゼによる活性成分の変性を抑制する。分子構造にさらに他の置換や修飾がなされることがある。例えば、好ましいペプチド活性剤であるサケ・カルシトニンはそのC末でアミデート化される。人工および天然両方のペプチドが本発明に従い経口投与できる。

本発明のペプチド活性化合物には、限定するものでないが、インスリン、バソプレシン、カルシトニン（好ましいサケ・カルシトニンのみでなく、他のカルシトニンも含む）がある。他の例として、カルシトニン遺伝子関連ペプチド、副甲状腺ホルモン、黄体化ホルモン放出因子、エリスロポエチン、組織プラスミノゲン・アクティベータ、ヒト成長ホルモン、アドレノコルチコトロピン、種々のインターロイキン、エンケファリンなどがある。他の多くのものが既知である。

消化管において開裂の対象となり得るペプチド結合を有するいかなる医薬化合物も本発明による経口投与からの利益が得られるであろう。なぜなら、本発明によ

ってこのような開裂が減少されると考えられるからである。

サケ・カルシトニンを用いるとき、医薬組成物全体（腸溶コーティングは除く）の全重量に対し好ましくは 0.02-0.2 %含まれる。サケ・カルシトニンは市販されている（例えば、BACHEM, Torrance, California）。また、既知技術で合成できる。そのいくつかを簡単に後記する。他のペプチド活性剤は、本発明の経口運送系における活性化合物およびそのバイオアベイラビリティに関して所望の目標血中濃度に従い高いあるいは低い濃度で存在すべきである（表 8 にいくつかを示す）。

サケ・カルシトニン前駆体は、既存技術の化学的または組換え合成法によってつくられる。他のアミド化ペプチド活性剤の前駆体も同様につくられる。組換え生産は非常に費用効率がよいと思われる。前駆体は既知のアミド化反応により活性サケ・カルシトニンに転換される。例えば、酵素的アミド化法は、米国特許 4,708,934 およびヨーロッパ特許公開 0 308 067 および 0 382 403 に記載されている。組換え生産は、前駆体およびそのサケ・カルシトニンへの転換を触媒する酵素の両方にとって好ましい。このような組換え生産は、Biotechnology, Vol. 11 (1993) pp. 64-70、に記載され、さらに前駆体のアミド化体への転換も述べている。ここで報告された組換え産物は、天然のサケ・カルシトニンあるいは溶液および固相化学的ペプチド合成を用いて製造されたサケ・カルシトニンに同じである。

好ましい組換えサケ・カルシトニン(rsCT)の生産は、例えば、可溶性融合タンパク質としてグリシン伸張サケ・カルシトニン前駆体をグルタチオン-S-トランスフェラーゼでつくることにより進行する。グリシン伸張前駆体はC末端を除けば活性サケ・カルシトニンと同じ分子構造を有する。（サケ・カルシトニンは -pro-NH₂ で終わり、前駆体は -pro-gly で終わる。上記の文献に記載された α -アミド化酵素が前駆体のサケ・カルシトニンへの転換を触媒する。上記引用の Biotechnology に記載のように、この酵素は好ましくは、組換的に例えばチャイニ

ーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞においてつくられる。他のアミド化ペプチドに対する他の前駆体は同様の方法でつくられる。アミド化あるいは他の追加的官能化を必要としないペプチドも同様の方法でつくられる。他のペプチド活性剤

は市販されているか、既存の技術でつくられる。

pH低下剤

サケ・カルシトニンの各投与と共に投与されるべき pH低下剤の全量は、腸内に放出されたときに、そこでのプロテアーゼ最適 pHを実質的に下回るように局所腸内 pH下げるのに十分な量で好ましくはあるべきである。必要とする量は、用いた pH低下剤の種類 (下記する) や pH低下剤により与えられるプロトン当量などのいくつかの因子により必然的に変わる。実際問題として、優れたバイオアベイラビリティを得るのに要する量は、0.1M 炭酸水素ナトリウム水溶液10mlを加えたときに、この水溶液の pHを5.5以下、好ましくは4.7以下、さらに好ましくは3.5以下に下げる量である。前述の試験では、約2.8に pHを下げるのに十分な酸がいくつかの実施態様で用いられる。本発明の医薬組成物において、好ましくは少なくとも 300mg、さらに好ましくは少なくとも 400mg の pH低下剤が使用される。このことは、2以上の pH低下剤が併用されたときは、それらを合わせた全重量に適用される。経口製剤は、pH低下化合物と共に放出されたときに、上記炭酸水素ナトリウム試験の pHが5.5に下がるのを妨げるような、いかなる塩基も含むべきでない。

本発明の pH低下剤は、消化管で毒性がなく、水素イオンを出すか (通常の酸)、局所環境から高い水素イオン量を誘発し得る薬学的に許容される化合物である。これらの化合物を併用することもできる。本発明で用いられる少なくとも1種の pH低下剤は、4.2以下、好ましくは3.0以下の pK_a を有する。また、pH低下剤は、室温で水100mlに対し少なくとも30g溶ける水溶性を有することが望まれる。

高い水素イオン量を誘発する化合物の例として、塩化アルミニウムおよび塩化亜鉛がある。薬学的に許容される通常の酸には、限定するものでないが、アミノ酸の酸性塩 (例えば、アミノ酸塩酸塩) およびその誘導体がある。例えば、アセ

チルグルタミン酸、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、ベ
タイン、カルニチン、カルノシン、シトルリン、クレアチン、グルタミン酸、グ
イシン、ヒスチジン、ヒドロキシリジン、ヒドロキシプロリン、ハイポタウリン
、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチルヒスチジン、ノルロイシン、オルニ
チ

ン、フェニルアラニン、プロリン、サルコシン、セリン、タウリン、スレオニン
、トリプトファン、チロシンおよびバリンである。

有用なpH低下剤の他の例として、アセチルサリチル酸、酢酸、アスコルビン
酸、クエン酸、フマル酸、グルクロン酸、グルタル酸、グリセリン酸、グリ
ココール酸、グリコキシル酸、イソクエン酸、イソ吉草酸、乳酸、マレイン酸、
オキサロ酢酸、オキサロコハク酸、プロピオン酸、ピルビン酸、コハク酸、酒石
酸、吉草酸などのカルボン酸類がある。

他に、通常は“酸”と呼ばれていないが、本発明において有用なpH低下剤と
して、リン酸エステル（例えば、フルクトース-1,6-ジホスフェート、グルコー
ス-1,6-ジホスフェート、ホスフォグリセリン酸およびジホスフォグリセリン酸
）がある。CARBOPOL（商標名、BF Goodrich）およびポリカルボフィルなどのポ
リマーもpHを下げるのに用いられる。

上記の炭酸水素ナトリウム試験において必要とするpH値5.5以下を得るのに
、pH低下剤を組み合わせることもできる。好ましい実施態様の1例では
、医薬組成物の少なくとも1つのpH低下剤として、クエン酸、酒石酸およびア
ミノ酸の酸性塩よりなる群から選ばれる酸が用いられる。

サケ・カルシトニンがペプチド活性剤であるとき、サケ・カルシトニンに対す
るpH低下剤のある比率が特に効果的である。サケ・カルシトニンに対するpH
低下剤の重量比が200:1以上、好ましくは800:1、最も好ましくは2000:1で
あることが望まれる。

吸収増進剤

吸収増進剤は、医薬組成物の全重量（腸溶コーティングは除く）に比して、0.
1-20.0重量%を構成する量で好ましくは存在する。好ましい吸収増進剤は、溶

解性増進剤および取り込み増進剤の両方の作用を有する界面活性剤である。一般的に、“溶解性増進剤”は、本発明の成分が放出される水性環境または腸壁に沿う粘膜層の親油性環境のいずれか、または両方において、その成分の溶解能を改善する。“移送（取り込み）増進剤”（溶解性増進剤としばしば同じ界面活性剤である）は、ペプチドが腸壁を通過するのを容易にするものである。

本発明の範囲内で、1以上の吸収増進剤が1機能のみ（例えば溶解性）を発揮し、1以上の吸収増進剤が他の機能のみ（例えば、取り込み）を発揮する。溶解性を改善する化合物、取り込みを改善する化合物および／または両方を改善する化合物、これらのいくつかの混合物にすることも可能である。理論に結びつける意図でないが、取り込み増進剤は、（1）腸管細胞の外膜の疎水性領域の無秩序を増加し、細胞を通る移送を可能にすること、（2）細胞を通る移送をもたらす膜タンパク質を侵出すること、または（3）パラ細胞移送の増加のために細胞間の細孔半径を広げること、により作用すると考えられる。

界面活性剤は、溶解性増進剤として、また取り込み増進剤として有用であると考えられる。例えば、洗剤は、（1）活性成分のすべてをその最初に放出された水性環境に迅速に溶解やすくすること、（2）本発明成分の親油性を高め、その腸粘膜へ移行または通過を助けること（3）刷子縁膜の上皮障壁を通過する通常の極性ペプチド活性剤の能力を高めること、および（4）上記したトランス細胞性またはパラ細胞性移行を増加することにおいて有用である。

界面活性剤が吸収増進剤として用いられたとき、製造工程における混合およびカプセルへの充填を容易にするために流動性のよい粉末であることが好ましい。サケ・カルシトニンおよび他のペプチドの固有の性質（例えば、その等電点、分子量、アミノ酸組成など）のために、一定の界面活性剤が一定のペプチドと最もよい相互作用を行う。実際、いくつかのものは、サケ・カルシトニンの電荷部分と望ましくない相互作用を起こし、その吸収を妨げ、結果として望ましくないバイオアベイラビリティの低下をもたらす。サケ・カルシトニンまたは他のペプチドのバイオアベイラビリティを増加しようとするとき、吸収増進剤として用いる界面活性剤、(i) コレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤（例えば、胆

汁酸)、(ii)カチオン界面活性剤(例えば、アシルカルニチン、ホスホリピド)、(iii)非イオン界面活性剤、および(iv)アニオン界面活性剤(特に直鎖炭化水素領域を有するもの)と負電荷中和剤との混合物よりなる群から選ばれるのが好ましい。負電荷中和剤には、制限するものでないが、アシルカルニチン、セシルピリジン塩酸塩などある。吸収増進剤は酸性pH、特に3.0-5.0の範囲で溶けることが望ましい。

サケ・カルシトニンとうまく作用する一つの特に好ましい組み合わせは、カチオン界面活性剤とコレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤の混合であり、両者は共に酸性pHで溶解性である。

特に好ましい組み合わせは酸性溶解胆汁酸とカチオン界面活性剤とである。アシルカルニチンとスクロースエステルとは、よい組み合わせである。なにか特定の吸収増進剤を単独で用いるときは、カチオン界面活性剤が望ましい。アシルカルニチン(例えば、ラウロイルカルニチン)、ホスホリピドおよび胆汁酸は特に優れた吸収増進剤であり、とりわけアシルカルニチンがそうである。コレステロール誘導体であるアニオン性界面活性剤もいくつかの実施態様で使用される。ペプチド剤の血中への吸収を妨害するペプチド剤との相互作用を避けるのが望ましい。

副作用の可能性を押さえるために、本発明の吸収増進剤として用いるとき、好ましい洗剤は、生分解性あるいは再吸収性(例えば、胆汁酸、ホスホリピドおよび/またはアシルカルニチンのどの生物的に再循環し得る化合物)であり、特に生分解性である。アシルカルニチンはパラ細胞移行の増加に特に有用と考えられる。胆汁酸(または直鎖炭化水素を欠く他のアニオン洗剤)をカチオン洗剤と併用するとき、サケ・カルシトニンは細胞壁中に、または細胞壁を通過してよく移行する。

好ましい吸収増進剤には、(a)サリチル酸ナトリウム、3-メトキシサリチレート、5-メトキシサリチレートおよびホモヴァレートなどのサリチレート、(b)タウロコール酸、タウロデオキシコール酸、デオキシコール酸、コール酸、グリコール酸、リソコエート、ケノデオキシコール酸、ウルソデオキシコ

ル酸、ウルソコール酸、デヒドロコール酸、フジジン酸などの胆汁酸、(c) 非イオン界面活性剤、例えば、ポリオキシエチレンエーテル(Brij 36T, Brit. 52, Brit. 56, Brij 76, Brit. 96, Texaphor A6, Texaphor A14, Tezphor A60など)、p-t-オクチルフェノールポロキシエテリエン (Triton X-45, Triton X-100, Triton X114, Triton X-305など)、ノニルフェノキシポロキシエチレン (例えば、Igepal CO 系)、ポリオキシエテルソルビタンエステル (例えば、Tween-20, Tween-80)、(d) アニオン界面活性剤、例えば、ジオクチルナトリウムスルフォサクシネート、(e) リソホスホリピド、例えば、リソレシチンおよびリ

ソホスファチジルエタノールアミン、(f) アシルカルニチン、アシルコリンおよびアシルアミノ酸、例えば、ラウロイルカルニチン、ミリストイルカルニチン、パルミトイルカルニチン、ラウロイルコリン、ミリストイルコリン、パルミトイルコリン、ヘキサデシルリジン、N-アシルフェニルアラニン、N-アシルグリシンなど、(g) 水溶性ホスホリピド、例えば、ジヘプタノイルホスホファチジルコリン、ジオクチルホスファチジルコリン、(h) 中鎖脂肪酸(カプリル酸、カプリン酸およびラウリン酸)を含むモノ、ジおよびトリグリセリドの混合物である中鎖グリセリド、(i) エチレンジアミンテトラ酢酸、(j) カチオン界面活性剤、例えば、セチルピリジニウムクロライド、(k) ポリエチレングリコールの脂肪酸誘導体、例えば、ラブラソル、ラブラファックおよび(1) アルキルサッカライド、例えば、ラウリルマルトシド、ラウロイルスクロース、ミリストイルスクロース、パルミトイルスクロースがある。

いくつかの好ましい実施態様において、理論に結びつける意図でないが、カチオンイオン交換剤(例えば洗剤)が他の可能なメカニズムにより溶解性を高めるのに用いられる。特に、これらは、サケ・カルシトニンまたは他のペプチド活性剤が粘液に結合するのを防止し得る。好ましいカチオンイオン交換剤には、プロタミンクロライドおよび他のポリカチオンがある。

他の選択的成分

水溶性障壁がpH低下剤を酸抵抗性保護運搬剤から離すことが望ましい。そのいくつかの例において、この障壁を提供する目的で通常の薬剤カプセルが用いら

れる。多くの水溶性腸壁が既知であり、限定するわけでないが、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび通常の薬剤ゼラチンがある。

いくつかの好ましい実施態様において、高価なペプチド活性剤の必要濃度を下げることにより非特異的吸収（例えば、ペプチドの腸管粘液障壁への結合）を減少するものに、他のペプチド（アルブミン、カゼイン、大豆タンパク質、他の動物性および植物性タンパク質など）がある。添加する際には、全医薬組成物（保護運搬剤を除く）重量に対し1.0-10重量%のペプチドが望ましい。好ましくは、この第二ペプチドは生理的に活性でなく、最も好ましいのは大豆ペプチドなどの食物ペプチドである。理論に結びつける意図ではないが、この第二ペプチドは、

プロテアーゼ相互作用のためにペプチド活性剤と望ましく競合するプロテアーゼスカベンジャーとして働くことによりバイオアベイラビリティも増大し得る。第二ペプチドは肝臓を通る活性化化合物の通過をも助ける。

本発明の全医薬組成物は、選択的に通常の薬剤希釈剤、多糖類、滑沢剤、ゼラチンカプセル、保存剤、着色剤などが普通に知られている大きさおよび量で選択的に含有し得る。

保護運搬剤

サケ・カルシトニンを胃プロテアーゼから保護し、本発明の他の成分が腸管内に放出されるように溶解するいかなる担体あるいは運搬剤が適切であり得る。このような多くの腸溶コーティングが既知であり、本発明に有用である。その例には、セルロースアセテートフタレート、ヒドロキシプロピルメチルエチルセルロースサクシネート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、カルボキシメチルエチルセルロースおよびメタクリル酸-メチルメタクリレート・コポリマーがある。いくつかの実施態様において、活性ペプチド、溶解性および／または取り込み増進剤などの吸収増進剤およびpH低下剤は十分に粘着性の保護シロップに含まれて、本発明の成分が保護されて胃を通るのが可能となる。

胃プロテアーゼからペプチド剤を保護するための適当な腸溶コーティングは、例えば、本発明の成分をカプセルに充填した後に、カプセルに施される。他の実施態様において、腸溶コーティングは、錠剤の外側になされるか、あるいは錠剤

の形に打たれるか、またはカプセル（それ自体腸溶コーティングで好ましくは被覆される）に充填された活性成分の粒子の外側になされる。

本発明のすべての成分が担体あるいは運搬剤から放出されて、できるだけ同時に腸管環境で安定化されるのが非常に望ましい。運搬剤あるいは担体が小腸において活性成分を放出することが望ましい。小腸では、トランス細胞性またはパラ細胞性移行を増加する取り込み増進剤が結腸中に後ほど放出されたときよりも望ましくない副作用を起こすことが少ない。しかし、本発明は結腸で小腸でと同様に効果的と考えられることを強調する。数多くの運搬剤または担体が上記のものに加えて当技術分野で知られている。腸溶コーティングの量は低く保つことが望ましい（特に、本発明の成分をいかに同時放出するかを最適化するにおいて）。

好ましくは、腸溶コーティングは医薬組成物の残余（残余とは、腸溶コーティングを除く医薬組成物である）の重量の30%以下である。より好ましくは、被覆されていない組成物重量の20%、特に12-20%である。腸溶コーティングの望ましくあるべき条件は、0.1N HClで少なくとも2時間、本発明の組成物の分解を防止し、該組成物を1分間100回転する分解浴でpHを6.3まで増加した後、30分以内に医薬組成物の全成分を完全に放出し得ることである。

他の選択

pH低下剤の吸収増進剤に対する重量比は、好ましくは3:1-20:1、より好ましくは4:1-12:1、および最も好ましくは5:1-10:1である。所望の医薬組成物における全pH低下剤の全重量および全吸収増進剤の合計重量は、上記の好ましい比率に含まれる。例えば、医薬組成物が2種のpH低下剤および3種の吸収増進剤を含有すると、上記の比率は2種のpH低下剤の合計した重量および3種の吸収増進剤の合計した重量について計算される。

pH低下剤、ペプチド活性剤および吸収増進剤（各カテゴリにおける単一化合物および複数化合物のいずれでも）が医薬組成物中に均一に分散するのが望ましい。ひとつの実施態様において、ペプチド活性剤、pH低下剤および吸収増進剤を有する医薬バインダーを含有する顆粒を医薬組成物は含む。

製造方法

本発明の好ましい医薬組成物には、サケ・カルシトニン0.25mg、粒状グエン酸400mg（例えばArcher Daniels Midland Corp.から入手可能）、タウロデオキシコール酸50mg（例えばSIGMAから入手可能）、ラウロイルカルニチン50mg(SIGMA)を充填させたサイズ〇〇ゼラチンカプセルがある。

すべての成分は、ゼラチンカプセルへの最終的な充填に好ましく、また好ましくはどの状態においても混合機に添加し得る粉末である。その後、粉末が完全に混合されるまで混合機を約5分間作動させる。次いで、混合した粉末をゼラチンカプセルの長い方に充填する。カプセルのもう一方の部分を加え、カプセルをきちんと閉める。このようなカプセルを500またはそれ以上コーティング器（例えば、Vector LDCS20/30 Laboratory Development Coating System (Vector Corp., Marion, Iowaから入手可能)）に入れる。

腸溶コーティング溶液は次のようにつくられる。EUDRAGIT L30 D-55（メタシル酸メチルエステルを有するメタクリル酸コポリマー、ROHM Tech Inc., Maiden, Mass.から入手可能な腸溶コーティング）500グラムを測る。蒸留水411グラム、トリエチルシトレート15グラムおよびタルク38グラムを加える。このコーティングの量は、サイズ〇〇カプセル約500個をコーティングするのに十分であろう。

カプセルの重さを量り、コーティング器のドラムに置く。この機器をドラム（カプセルを含んでいる）が24-28rpmで回転するように作動させる。入口噴霧の温度は好ましくは約45℃である。排出温度は好ましくは約30℃である。コーティングしていないカプセルの温度は好ましくは約25℃である。気流は毎分約38立方フィートである。

機器からの管を、上記のように準備したコーティング溶液の中に挿入する。次いで、コーティング器に溶液を供給するためにポンプを作動させる。次いで、自動的にコーティングが行われる。コーティング量が十分かどうか測定するのにカプセルの重さを量るためにいつでも機器を停止することができる。通常のコーティングは60分間で行われる。コーティングされたカプセルを乾燥させるために機器がまだ作動している間、ポンプは約5分間切っておく。次いで、機器を切る

ことができる。カプセルコーティングはこれで完了したが、カプセルは約2日間自然乾燥させたほうがよい。

本発明によって高いバイオアベイラビリティがもたらされるので、本発明の医薬製造においてコストの高いサケ・カルシトニンの濃度は比較的低くてもよい。特殊な製造例は下記の実施例にある。

患者の治療

骨粗鬆症の治療のための活性成分としてサケ・カルシトニンを選ぶとき、定期的な投与が勧められる。サケ・カルシトニンは、ヒトに皮下投与した後わずか20-40分の半減期で迅速に代謝される。しかしながら、破骨細胞における有益な効果は、非常に長く持続し、血液レベルが急速に下がるにもかかわらず、24時間以上持続することもある。サケ・カルシトニンを従来の用量で注入した後2時間以上では、通常検出されるような血液レベルにない。従って、1週間に約5

日、単用量を定期的に投与するのが好ましい。サケ・カルシトニンの皮下投与（100国際単位）は1ミリリットル当たり約250ピコグラムのピーク血清濃度をもたらすことが多い。サケ・カルシトニンの経鼻投与（200国際単位）は、1ミリリットル当たり10ピコグラムの低いピークレベルで骨粗鬆症に効果的であることがわかっている。何人かの患者が高いピークレベル（例えば、1ミリリットル当たり200ピコグラムまたはそれ以上）で何らかの胃腸障害を訴えている。従って、血清サケ・カルシトニンピークは、好ましくは1ミリリットル当たり10-150ピコグラム、より好ましくは1ミリリットル当たり10-50ピコグラムである。血清レベルは、当業者に既知の放射免疫検定法で測定され得る。担当医は、特に治療の初期段階の間（1-6ヶ月）患者の反応、サケ・カルシトニン血液レベルを監視したり、または骨障害のマーカー（泌尿ピリジノリンまたはデオキシピリジノリン）を監視し得る。その後担当医は個々の患者の代謝および反応を考慮して用量をある程度変えることができる。

本発明により達成可能なバイオアベイラビリティによって、1カプセル当たりサケ・カルシトニンわずか100-1000ミクログラム、好ましくは100-400ミクログラム、特に100-200ミクログラムを用いて、サケ・カルシ

トニンの経口投与で血液中に上記に定義した好ましい濃度レベルを達成することができる。

単一のカプセルがポリペプチド、pH低下剤および吸収増進剤の同時放出を最もよく提供するので、各投与においては単一カプセルの使用が好ましい。ポリペプチドの放出のすぐ後に酸が放出されると、酸がポリペプチドに対する望ましくないタンパク質分解性攻撃を最もよく減少させるので、単一カプセルが非常に望ましい。単一錠または単一カプセルで本発明のすべての成分を投与することによりほぼ同時の放出が最もよく達成される。しかしながら、本発明はまた、例えば、すべての成分の必要量を共に提供するような方法と一緒に投与され得る2またはそれ以上のカプセル中の酸と増進剤の所望量を分割することを含む。本明細書で使用される“医薬組成物”は、実質的に同時投与に関する限りどのように細分されようと関係なく、ヒト患者に対する特定の投与について適切な完全量を含む。

特定のパラメーターを変えて生じたバイオアベイラビリティに対する効果を下

記の一連の表に示す。本明細書に報告したヒト試験を除いて、成分量はヒトと動物モデルに使用された動物の相違を考慮して本明細書に記載されたものを変えてもよい。

表1

ラットの十二指腸からのサケ・カルシトニンの吸収に対する緩衝液pHの効果

組成	pH*	ピーク血漿 カルシトン ng/ml	絶対バイオ アベイラビリティ パーセント
I. クエン酸塩/クエン酸 (7.7 mg) カルシトニン (0.1 mg)	5	0.4	0.02
II. クエン酸塩/クエン酸 (7.7 mg) カルシトニン (0.1 mg)	4	1.9	0.10
III. クエン酸塩/クエン酸 (7.7 mg) カルシトニン (0.1 mg)	3	4.1	0.64
IV. クエン酸塩/クエン酸 (7.7 mg) カルシトニン (0.1 mg)	2	4.8	0.69

緩衝液 pH

方法：

頸動脈にカニューレを挿入する前にケタミンおよびキシラジンで雌Wistarラット(250-275 g)(各組成について $n=3$)に麻酔をかけた。カニューレを方向弁に固定し、そこから血液を採取し、生理食塩水を入れる。腹腔を正中線切開し、露出した十二指腸に組成0.5mlを直接注入した。組成のpHはクエン酸とクエン酸ナトリウムの等モル濃度の様々な量を混合することで調節した。組成投与前および5、15、30、60および120分後に血液(0.5ml)を採取した。血液サンプルを10分間2600 gで遠心分離機にかけ、生じた上澄み血漿を -20°C で保管した。血漿中のカルシトニンの濃度は競合放射免疫検定で測定した。絶対バイオアベイラビリティ(つまり、カルシトニンの静脈内用量と比較して)は、時間関数としてのカルシトニンの血漿濃度の記入から得られた曲線下の領域から計算した。

結果および考察：

緩衝液のpHが5(組成I)から4(組成II)に下がったとき、絶対バイオアベイラビリティは5倍増加し、0.02%から0.1%となった。pHが3(組成III)に下がったとき、絶対バイオアベイラビリティはさらに6.4倍増加した。pHが2に下がったとき、カルシトニンのバイオアベイラビリティは極わずかに増加しなかった。緩衝液のpHが5から3に下がったとき、全体でカルシトニンのバイオアベイラビリティは32倍増加した。

表 2

ラットの十二指腸からのサケ・カルシトニンの
バイオアベイラビリティに対するクエン酸濃度の効果

組成		ピーク血漿カルシトニン ng/ml	絶対バイオアベイラビリティ パーセント
I.	クエン酸 (9.6mg)	3.65	0.25
	タウロデオキシコール酸 (5mg)		
	マンニトール (22mg)		
	カルシトニン (0.1mg)		
II.	クエン酸 (48mg)	17.44	2.43
	タウロデオキシコール酸 (5mg)		
	マンニトール (22mg)		
	カルシトニン (0.1mg)		

方法：

一定量のタウロデオキシコール酸および2つの異なる量のクエン酸からなる全
体量0.5 mlの組成を、表1の説明で記載したように麻酔をかけたラットの十二
指腸に投与した。マンニトールをマーカーとしてパラ細胞輸送を測定するために
組成に含めた。血液サンプルを数回採取し、前述のようにカルシトニンについて
分析した。

結果および考察：

クエン酸9.6 mg (I) の存在下で投与されたサケ・カルシトニンのバイオア
ベイラビリティは0.25%で、一方クエン酸48 mg (II) の存在下ではバイオ
アベイラビリティは2.43%であった。固定量のタウロデオキシコール酸の存
在下で、組成中のクエン酸量を5倍に増加しただけで、サケ・カルシトニンのバ
イオアベイラビリティは10倍近く増加した。

表3

ラットの十二指腸からのサケ・カルシトニンの吸収
に対するクエン酸の存在下における増進剤の効果

組成	ピーク血漿カルシトン ng/ml	絶対バイオアベイラビリティ パーセント
I. クエン酸(77mg) カルシトニン(0.1mg)	4.8	0.69
II. クエン酸(48mg) タウロデオキシコール酸(5mg) カルシトニン(0.1mg)	26.59	3.03
III. クエン酸(48mg) タウロデオキシコール酸(5mg) 塩化セチルピリジニウム(5mg) カルシトニン(0.1mg)	36.48	4.54
IV. クエン酸(48mg) Tween-20(5mg) カルシトニン(0.1mg)	15.50	3.10
V. クエン酸(48mg) スクロースエステル(5mg) マンニトール(22mg) カルシトニン(0.1mg)	38.93	5.83
VI. クエン酸(48mg) 塩化ラウロイルカルニチン(5mg) カルシトニン(0.1mg)	38.89	4.53
VII. クエン酸(48mg) ジヘプタノイル ホスファチジルコリン(5mg) カルシトニン(0.1mg)	20.93	2.97

方法：

クエン酸、カルシトニンおよび様々な種類の増進剤からなる全体量0.5mlの組成を、表1の説明に記載したように麻酔をかけたラットの十二指腸に投与した。マンニトールをマーカーとしてパラ細胞輸送を測定するために組成Vに含めた。血液サンプルを数回採取し、前述のようにカルシトニンについて分析した。

結果および考察：

増進剤の不存在下では、カルシトニンの絶対バイオアベイラビリティは0.69%であった。水溶性リン脂質の含有（組成VII）によりバイオアベイラビリテ

イ

は4.3倍増加し2.97%となった。最も効果的な増進剤は糖エステル類（組成V）で、カルシトニンのバイオアベイラビリティは5.83%であった。胆汁酸とカチオン洗剤の混合物（組成III）、非イオン洗剤（組成IV）およびアシルカルニチン（組成VI）の使用は、3.03%から4.53%の範囲で中位のバイオアベイラビリティをもたらした。様々な種類の増進剤の存在下におけるカルシトニンのバイオアベイラビリティの相違は、組成中にクエン酸のみが存在し、増進剤が存在しないときに観察したのと比べて重要でない。

表4

ラットの十二指腸からのサケ・カルシトニンの吸収
に対する種々の添加剤の存在下におけるラウロイルカルニチンの効果

組成	ピーク血漿カルシトン ng/ml	絶対バイオアベイラビリティ パーセント
I. カルシトニン (1mg)	9.44	0.096
II. 塩化ラウロイルカルニチン (5mg) カルシトニン (0.1mg)	2.27	0.17
III. 塩化ラウロイルカルニチン (5mg) クエン酸 (48mg) カルシトニン (0.1mg)	38.89	4.53
IV. 塩化ラウロイルカルニチン (1mg) クエン酸 (48mg) カルシトニン (0.1mg)	27.72	4.81
V. 塩化ラウロイルカルニチン (5mg) ジヘプタノイル ホスファチジルコリン (5mg) クエン酸 (48mg) カルシトニン (0.1mg)	44.89	6.45
VI. 塩化ラウロイルカルニチン (5mg) 牛血清アルブミン (25mg) カルシトニン (0.1mg)	4.58	0.42

方法：

ラウロイルカルニチン、カルシトニンおよび種々の他の化合物からなる全体量0.5mlの組成を、表1の説明で記載したように麻酔をかけたラットの十二指腸に投与した。血液サンプルを数回採取し、前述のようにカルシトニンについて分

析した。

結果および考察：

クエン酸または増進剤の不存在で（組成Ⅰ）、カルシトニンの絶対バイオアベイラビリティは、0.096%であった。塩化ラウロイルカルニチン5mgの存在下では（組成Ⅱ）、バイオアベイラビリティは1.8倍増加し0.17%であった。ラウロイルカルニチンにクエン酸を添加すると（組成Ⅲ）、バイオアベイラビリティがさらに27倍増加し4.53%になった。クエン酸ではなく、ラウロイルカルニチンの量を5倍減少しても（組成Ⅳ）、サケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティは有意に減少しなかった。組成Ⅲにジヘプタノイルホスファチジルコール5mgを添加して組成Ⅴをつくると、バイオアベイラビリティがわずかに増加した（1.4倍）。クエン酸を牛血清アルブミン25mgに代えると（組成Ⅵ）、バイオアベイラビリティが4.53%（組成Ⅲ）から0.42%へ減少した。これらの結果は全体として、クエン酸のようなpH低下物質とラウロイルカルニチンのような増進剤の間の相乗効果を示す。

表5

イヌの十二指腸からのサケ・カルシトニンの吸収に対する組成の効果

組成	ピーク血漿カルシトニン ng/ml	絶対バイオアベイラビリティ パーセント
Ⅰ. カルシトニン(25mg)	1.15	0.015
Ⅱ. クエン酸(192mg) カルシトニン(10mg)	10.65	0.37
Ⅲ. クエン酸(192mg) タウロデオキシコール酸(20mg) カルシトニン(5mg)	14.99	0.81

方法：

改良血管アクセスポートModified Vascular Access Portsを雄のビーグル犬の十二指腸、回腸および結腸に外科手術により移植した。ポートの隔膜/貯臓器体を皮下に移植し、カルシトニン組成の投与ための部位として使用した。カルシトニン組成を意識のあるイヌに投与する前および後に、ポートをカルシトニンなしの組成2mlで洗い流した。カルシトニン投与前の $t = 30$ 、15および0、

および投与後の5、10、20、30、40、50、60の15分毎に2時間血液(2ml)を脚静脈の血管カテーテル管から採取した。血液サンプルを10分間

2600gで遠心分離にかけ、生じた上澄み血漿を-20℃で保管した。血漿中のカルシトニン濃度は競合放射免疫検定で測定した。絶対バイオアベイラビリティ(つまり、カルシトニンの静脈内用量と比較して)は、得た時間関数の血漿濃度の記入から得られた曲線下の領域から計算した。

結果および考察:

水で投与したカルシトニン(I)の絶対アベイラビリティは、0.015%であった。クエン酸192mgの存在下では(II)、カルシトニンのバイオアベイラビリティは25倍増加した。組成(III)においてタウロデオキシコール酸20mgを添加すると、絶対バイオアベイラビリティはさらに2.2倍増加し、0.81%になった。pH低下化合物、クエン酸および増進剤、タウロデオキシコール酸の組み合わせは、全体でサケ・カルシトニンの絶対アベイラビリティを54倍増加した。

表6

イヌへのサケ・カルシトニン経口投与の絶対アベイラビリティ
に対する用量形態および組成の効果

カプセル	HC1に おける 溶解 分	組成	ピーク血漿 カルシトニン ng/ml	ピーク血漿 カルシトニン 分	絶対アベ イラビ リティ パーセント
I. デンブン	10	クエン酸 (100mg) タウロデオキシ コール酸(100mg) カルシトニン(10mg)	0.98	10-30	0.07
II. ゼラチン	30	クエン酸 (100mg) タウロデオキシ コール酸(100mg) カルシトニン(10mg)	5.79	10-30	0.26
III. ゼラチン	30	クエン酸 (600mg) タウロデオキシ コール酸(80mg) カルシトニン(5mg)	6.92	10-30	0.62
IV. ゼラチン	>60	クエン酸 (600mg) タウロデオキシ コール酸(80mg) カルシトニン(5mg)	7.79	90	1.48

方法：

示した組成をデンブンおよびゼラチンカプセルに充填し、コーティング釜でヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート50（I、II、III）（1%重量増加）またはEudragit L30 D-55（IV）（10%重量増加）のいずれかで60分間コーティングする。1N HC1におけるカプセルの安定性はバスケット法を用いて溶解浴で測定した。少なくとも2匹のイヌに各々カプセルを経口で与え、血液を採取し、前述のようにサケ・カルシトニンについて分析した。

結果：

クエン酸100mgおよびタウロデオキシコール酸100mgと混合し、デンブン

カプセル (I) に充填したカルシトニン 10mg のバイオアベイラビリティは、0.07% であった。同じ組成をゼラチンカプセル (II) でイヌに与えたところ、サケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティは 0.26% に増加した。クエン酸の量を 6 倍増加し、カルシトニンの量を 50% 減量すると (III)、カルシトニンのバイオアベイラビリティは 3 倍近く増加した。

腸溶コーティングをヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート 50 から Eudragit L 30 D-55 に変え、メタクリレートポリマーおよび組成は変えないでみると (IV)、サケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティは 0.62% から 1.48% に増加した。腸溶コーティングをヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート 50 から Eudragit L 30 D-55 に変えると、1N HCl におけるカプセルの安定性が増加した。この増加した安定性により、イヌの血液中における後の時間点に現れているピークカルシトニンレベルがもたらされた。HCl におけるカプセル I、II および III の不安定性は、これらのカプセルがイヌの胃の中で開口している可能性があることを示唆し、一方、カプセル IV の改良された安定性は、このカプセルがイヌの胃の中では完全に安定で、腸で開口していることを示唆している。これは、ある程度の最小腸溶コーティング量が好ましいことを示している。同時に、過剰のコーティングは、カルシトニンの放出を他の重要な成分（例えば、酸または洗剤）の放出の後に遅らせてしまうことがある。好ましくは、腸溶コーティングは、非コーティング組成の重量に対し 5 - 15% でなされる。

表 7

ヒトにおける経口カルシトニン (10.5mg) の薬物動態

時間 分	対象1	対象2	対象3	対象4	対象5	平均
	血漿カルシトニン (pg/ml)					
0	0	0	0	0	0	0
15	34	0	0	0	1	7
30	497	91	206	0	70	173
40	327	86	99	26	35	114
50	173	114	78	117	26	102
60	87	106	40	180	20	87
70	72	108	64	63	35	68
80	27	85	54	30	25	44
90	43	102	46	19	14	45
100	40	89	28	17	28	41
110	0	91	16	13	0	24
120	49	117	34	0	6	41
180	34	107	0	0	16	31
バイオアベイラビリティ (%)	0.06	0.04	0.03	0.02	0.02	0.03

方法：

デンプンカプセルにクエン酸138mg、タウロデオキシコール酸105mgおよびサケ・カルシトニン10.5mgを充填した。カプセルをヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート50で20分間コーティング釜で処理し、4℃で保管した。検査日の朝、絶食の対象者に1カプセルと、次いでオレンジジュースをコップ1杯与えた。血液サンプルをカプセル服用15分前と、カルシトニンカプセル摂取後の指示した時間に採取した。血液中のカルシトニン濃度は競合放射免疫検定により測定した。絶対バイオアベイラビリティ（カルシトニンの静脈内用量と比較して）は、時間関数のカルシトニンの血漿濃度の記入から得られた曲線下の領域から計算した。

結果：

サケ・カルシトニン10mgを単独でヒトに投与したとき、サケ・カルシトニンの検出可能な血清レベルは得られなかった。しかしながら、表7に記載した本発明の組成物を与えたところ、カプセルを摂取した後30-60分の血液中にカルシトニンの最大レベルが検出された。血液中のカルシトニンの最大濃度は70-

497 pg/mlであった。5人の対象においてカルシトニンの平均ピーク濃度は $t=30$ 分で173 pg/mlであった。絶対バイオアベイラビリティは0.02%から0.06%の範囲で、群平均0.03%であった。

表8

ラットにおけるバソプレッシン、カルシトニンおよびインシュリンのバイオアベイラビリティに対するクエン酸およびラウロイルカルニチンの効果

ペプチド	組成	ピーク血漿ペプチド ng/ml	絶対バイオ アベイラビリティ パーセント
[Arg ⁸]-バソプレッシン	バソプレッシン(1mg)	0.62	0.38
	バソプレッシン(0.1mg) クエン酸(48mg) ラウロイルカルニチン(5mg)	24.3	8.10
サケカルシトニン	カルシトニン(1mg)	9.44	0.096
	カルシトニン(0.1mg) クエン酸(48mg) ラウロイルカルニチン(5mg)	27.72	4.81
ヒトインシュリン	インシュリン(1mg) クエン酸(48mg)	0.56	0.07
	インシュリン(1mg) クエン酸(48mg) ラウロイルカルニチン(5mg)	18.3	0.76

方法：

[a r g⁸]-バソプレッシン、組み替えサケ・カルシトニンまたはヒトインシュリンのいずれかおよび指定の添加剤からなる全体量0.5mlの組成を表1の説明に記載されたように麻酔をかけたラットの十二指腸に投与した。血液サンプルを数回除去し、前述のように指定のペプチドについて分析した。

結果および考察：

添加剤の不存在で、十二指腸内に投与された[a r g⁸]-バソプレッシンの絶対バイオアベイラビリティは0.38%であった。組成にクエン酸およびラウロイルカルニチンを加えると、バソプレッシンのバイオアベイラビリティは8.

1%に増加した。カルシトニンのバイオアベイラビリティは、酸および増進剤の不存在下では0.096%で、バソプレッシンのみについてのものより低い。しかしながら、クエン酸およびラウロイルカルニチンを組成に含むと、絶対アベイラビリティは50倍増加し4.53%となった。クエン酸の不存在下では、ヒトインシュリンは水に溶解し得なかった。クエン酸の存在下では、すべてのペプチドが容易に溶解し、十二指腸内に投与されたヒトインシュリンの絶対バイオアベイラビリティは0.07%であった。ラウロイルカルニチンが組成に含まれるとき、インシュリンの絶対バイオアベイラビリティは、10倍増加した。これらの結果は、ペプチドのみのバイオアベイラビリティは最大0.38%で、クエン酸のような有機酸およびラウロイルカルニチンのような増進剤を含むとペプチドバイオアベイラビリティが8.1%まで増加したことを示している。

表9

ヒトにおける経口カルシトニン (0.82 mg) の薬物動態

時間 分	対象1	対象2	対象3	対象4	対象5	平均
血漿カルシトニン (pg/ml)						
0	0	0	0	0	0	0
15	21	0	0	0	0	4
30	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	28	0	6
60	0	0	0	211	0	42
70	17	0	0	92	0	22
80	0	29	0	59	0	18
90	0	472	0		623	274
100	48	199	151	27	210	127
110	17	75	71	23	108	59
120	598	33	69	20	53	155
180	25	0	0	0	0	5
バイオアベイラビリティ (%)	.52	0.14	0.16	0.41	0.68	0.38

方法：

ゼラチンカプセルにクエン酸473mg、タウロデオキシコール酸75mg、ラウロイルカルニチン75mgおよびサケ・カルシトニン0.82mgを充填した。カプセルをEudragit L30-D55で60分間コーティング釜で処理し、4℃で保管した。

検査日の朝、絶食の対象者に1カプセルと、次いでオレンジジュースをコップ1杯与えた。血液サンプルをカプセル服用15分前と、カルシトニンカプセル摂取後の指示した時間に採取した。血液中のカルシトニン濃度は競合放射免疫検定により測定した。絶対バイオアベイラビリティ（つまり、カルシトニンの静脈内用量と比較して）は、時間関数のカルシトニンの血漿濃度の記入から得られた曲線下の領域から計算した。

結果：

カプセルを摂取してから50-180分後の血液中にカルシトニンの最大レベルが検出された。血液中のカルシトニンのピーク濃度は $211-623 \text{ pg/ml}$ であった。5人の対象のカルシトニンの平均最大濃度（ C_{\max} ）は 411 pg/ml で、目標とする治療血漿レベルより約5-10倍高い。絶対バイオアベイラビリティは0.14%から0.68%の範囲で、群平均0.38%であった。これらの結果から、ペプチド含量が約10倍減少しても、sCTのバイオアベイラビリティは表7で得られたものと比較して、デンプンカプセルの代わりゼラチンカプセルを用いること、腸溶コーティングとしてヒドロキシメチルセルロースフタレートに代わりEudragit L30-D55を用いること、クエン酸の量を増加すること、および組成にラウロイルカルニチンを含めることにより、10倍増加したことが分かる。

本発明はその特定の実施態様について記載してきたが、多くの他の変更、改良および他の使用が当業者にとって明らかであろう。従って、本発明は本明細書に特に開示されたことによって限定されず、請求の範囲のみによって限定される。

【手続補正書】特許法第184条の8第1項

【提出日】1998年2月20日

【補正内容】

オン界面活性剤とコレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤の混合であり、両者は共に酸性pHで溶解性である。

特に好ましい組み合わせは酸性溶解胆汁酸とカチオン界面活性剤とである。アシルカルニチンとスクロースエステルとは、よい組み合わせである。なにか特定の吸収増進剤を単独で用いるときは、カチオン界面活性剤が望ましい。アシルカルニチン（例えば、ラウロイルカルニチン）、ホスホリピドおよび胆汁酸は特に優れた吸収増進剤であり、とりわけアシルカルニチンがそうである。コレステロール誘導体であるアニオン性界面活性剤もいくつかの実施態様で使用される。ペプチド剤の血中への吸収を妨害するペプチド剤との相互作用を避けるのが望ましい。

副作用の可能性を押さえるために、本発明の吸収増進剤として用いるとき、好ましい洗剤は、生分解性あるいは再吸収性（例えば、胆汁酸、ホスホリピドおよび／またはアシルカルニチンのどの生物的に再循環し得る化合物）であり、特に生分解性である。アシルカルニチンはパラ細胞移行の増加に特に有用と考えられる。胆汁酸（または直鎖炭化水素を欠く他のアニオン洗剤）をカチオン洗剤と併用するとき、サケ・カルシトニン細胞壁中に、または細胞壁を通してよく移行する。

好ましい吸収増進剤には、(a) サリチル酸ナトリウム、3-メトキシサリチレート、5-メトキシサリチレートおよびホモヴァレートなどのサリチレート、(b) タウロコール酸、タウロデオキシコール酸、デオキシコール酸、コール酸、グリコール酸、リソコーエート、ケノデオキシコール酸、ウルソデオキシコール酸、ウルソコール酸、デヒドロコール酸、フジジン酸などの胆汁酸、(c) 非イオン界面活性剤、例えば、ポリオキシエチレンエーテル(Brij 36T, Brit 52, Brit 56, Brij 76, Brit 96, Texaphor A6, Texaphor A14, Tezphor A60など)、p-t-オクチルフェノールポリオキシエチレン (Triton X-45, Triton X-100, Triton X114, Triton X-305など)、ノニルフェノキシポリオキシエチレン（例えば、

Igepal CO 系)、ポリオキシエチレンソルビタンエステル(例えば、Tween-20, Tween-80)、(d) アニオン界面活性剤、例えば、ジオクチルナトリウムスルフォサキシネート、(e) リンホスホリピド、例えば、リソレシチンおよび

リソホスファチジルエタノールアミン、(f) アシルカルニチン、アシルコリンおよびアシルアミノ酸、例えば、ラウロイルカルニチン、ミリストイルカルニチン、パルミトイルカルニチン、ラウロイルコリン、ミリストイルコリン、パルミトイルコリン、ヘキサデシルリジン、N-アシルフェニルアラニン、N-アシルグリシンなど、(g) 水溶性ホスホリピド、例えば、ジヘプタノイルホスホファチジルコリン、ジオクチルホスファチジルコリン、(h) 中鎖脂肪酸(カプリル酸、カプリン酸およびラウリン酸)を含むモノ、ジおよびトリグリセリドの混合物である中鎖グリセリド、(i) エチレンジアミンテトラ酢酸、(j) カチオン界面活性剤、例えば、セチルピリジニウムクロライド、(k) ポリエチレングリコールの脂肪酸誘導体、例えば、ラブラソル、ラブラファックおよび(I) アルキルサッカライド、例えば、ラウリルマルトシド、ラウロイルスクロース、ミリストイルスクロース、パルミトイルスクロースがある。

いくつかの好ましい実施態様において、理論に結びつける意図でないが、カチオンイオン交換剤(例えば洗剤)が他の可能なメカニズムにより溶解性を高めるのに用いられる。特に、これらは、サケ・カルシトニンまたは他のペプチド活性剤が粘液に結合するのを防止し得る。好ましいカチオンイオン交換剤には、プロタミンクロライドおよび他のポリカチオンがある。

他の選択的成分

水溶性障壁がpH低下剤を酸抵抗性保護運搬剤から離すことが望ましい。そのいくつかの例において、この障壁を提供する目的で通常の薬剤カプセルが用いられる。多くの水溶性腸壁が既知であり、限定するわけでないが、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび通常の薬剤ゼラチンがある。

いくつかの好ましい実施態様において、高価なペプチド活性剤の必要濃度を下げることにより非特異的吸収(例えば、ペプチドの腸管粘液障壁への結合)を減少するものに、他のペプチド(アルブミン、カゼイン、大豆タンパク質、他の動

物性および植物性タンパク質など)がある。添加する際には、全医薬組成物(保護運搬剤を除く)重量に対し1.0-10重量%のペプチドが望ましい。好ましくは、この第二ペプチドは生理的に活性でなく、最も好ましいのは大豆ペプチドなどの食物ペプチドである。理論に結びつける意図ではないが、この第二ペプチドは、

【手続補正書】

【提出日】1998年10月29日

【補正内容】

請求の範囲

1. 生理的活性ペプチド剤の経口用の医薬組成物であって、
 - (A) 治療上効果的な量の該活性ペプチド剤；
 - (B) 少なくとも1種の薬学的に許容されるpH低下剤；
 - (C) 該活性剤のバイオアベイラビリティを促進するのに効果的な少なくとも1種の吸収増進剤；
 - (D) 該活性ペプチドと胃プロテアーゼとの接触を防止する間、患者の胃を通して該医薬組成物を移送するのに効果的な酸抵抗性保護運搬剤；(うち、pH低下剤は、該組成物を0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液のpHを5.5以下にするのに十分となる量で、該医薬組成物中に存在する)を含む医薬組成物。
2. 該医薬組成物が0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlの量に加えられときに該水溶液のpHを3.5以下にするのに十分な量で、該pH低下剤が存在する、請求項1の医薬組成物。
3. 該保護運搬剤が該医薬組成物の残余の重量に対して30%以下の重量で存在する、請求項1の医薬組成物。
4. 該吸収増進剤がアシルカルニチン、ホスホリピドおよび胆汁酸よりなる群から選ばれる、請求項1の医薬組成物。
5. さらにスクロースエステルを含有する、請求項4の医薬組成物。

6. 該医薬組成物が少なくとも2種の吸収増進剤を含有し、その一つがカチオン界面活性剤であり、他の一つがコレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤である、請求項1の医薬組成物。

7. さらに該ペプチド活性剤のバイオアベイラビリティを高めるのに効果的な量の第二ペプチドを含む、請求項1の医薬組成物。

8. さらに該pH低下剤を該保護運搬剤から分離する水溶性障壁を含む、請求項1の医薬組成物。

9. 該医薬組成物が該吸収増進剤に対する該pH低下剤の重量比3:1-20:

1の固体の用量形態である、請求項1の医薬組成物。

10. 該pH低下剤が300mgより少ない量で存在する、請求項1の医薬組成物。

11. 該ペプチド剤がバソプレシンである、請求項1の医薬組成物。

12. 該ペプチド剤がサケ・カルシトニンである、請求項1の医薬組成物。

13. 該ペプチド剤がインスリンである、請求項1の医薬組成物。

14. 該組成物がサケ・カルシトニンの経口用であって、

(A) 治療上効果的な量の該サケ・カルシトニン；

(B) 少なくとも1種の薬学的に許容されるpH低下剤；

(C) 該サケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティを促進するのに効果的な少なくとも1種の吸収増進剤；

(D) 腸溶コーティング；

(うち、pH低下剤は、該組成物を0.1M炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液のpHを5.5以下に下げるのに十分となる量で、該医薬組成物中に存在する)

を含む、請求項1の医薬組成物。

15. 該pH低下剤の該サケ・カルシトニンに対する重量比が少なくとも200:1である、請求項14の医薬組成物。

16. 該組成物がサケ・カルシトニンの経口用であって、

(A) 治療上効果的な量の該サケ・カルシトニン；

(B) 4.2より大きくない pK_a を有し、室温で100mlに少なくとも30g溶ける水溶性を有する、少なくとも1種の薬学的に許容される pH 低下剤；

(C) 該サケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティを促進するのに効果的な少なくとも1種の吸収増進剤；

(D) 該医薬組成物の残余の重量に対して10%–20%の重量で存在する腸溶コーティング；

(E) 該 pH 低下剤を該腸溶コーティングから分離する水溶性腸壁；

(うち、 pH 低下剤は、該組成物を0.1M 炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液の pH を5.5以下にするのに十分となる量で、該医薬

組成物中に存在する)

を含む、請求項1の医薬組成物。

17. 経口投与された治療的ペプチド活性剤のバイオアベイラビリティを高めるための方法であって、該ペプチド活性剤が少なくとも1種の pH 低下剤および少なくとも1種の吸収増進剤と共に、胃プロテアーゼと該ペプチド剤との接触を実質的に防止する酸抵抗保護運搬剤の保護の下に該患者の日および胃を経て、次いで該ペプチド活性剤、 pH 低下剤および吸収増進剤が腸管中に選択的に放出される方法（うち、該 pH 低下剤および他の化合物は、0.1M 炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液の pH を5.5以下に下げるのに十分となる量で、該腸管中に放出される）。

18. 該 pH 低下剤は、全成分を0.1M 炭酸水素ナトリウム水溶液10mlに加えたときに、該溶液の pH を3.5以下にするのに十分となる量で存在する、請求項17の方法。

19. 該吸収増進剤に対する該 pH 低下剤の重量比が3：1–20：1である、請求項17の方法。

20. 該ペプチド剤がサケ・カルシトニンである、請求項17の方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US97/04024

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) : Please See Extra Sheet.

US CL : 424/426, 474, 475, 480, 491, 461, 457; 514/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 424/426, 474, 475, 480, 491, 461, 457; 514/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

APS, MEDLINE, DERWENT WORLD PATENTS INDEX, BIOSIS, Search terms: Calcitonin, Salmon?, surfactant, oral?, enteric coating? casein?

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,206,219 A (DESAI) 27 April 1993, see columns 10, and 11.	1-50
Y	US 5,350,741 A (TAKADA) 27 September 1994, see claims 11, and claims 14-20.	1-50
Y	US 5,472,710 A (KLOKKERS-BETHKE et al.) 05 December 1995, see claims 14-19.	1-50

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	* T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
* A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	* X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
* E earlier document published on or after the international filing date	* Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
* L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	* & document member of the same patent family
* O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
* P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

21 MAY 1997

Date of mailing of the international search report

27 JUN 1997

 Name and mailing address of the ISA/US
 Commissioner of Patents and Trademarks
 Box PCT
 Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

ALI R. SALIMI

Telephone No. (703) 308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US97/04024

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

IPC (6):

A61F 2/00; A61K 9/52, 9/62, 9/28, 9/30, 9/36, 9/16, 9/50, 38/00

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), UA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN